

English Abstract for Japanese Patent Publication No. 9-187285:

S4 1 PN="JP 9187285"

?t s4/9/1

4/9/1

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI

(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

008584749 \*\*Image available\*\*

WPI Acc No: 1991-088781/199113

Related WPI Acc No: 1995-030306; 1999-105191; 1999-166619; 1999-480843;  
1999-570774

XRAM Acc No: C91-037714

XRPX Acc No: N91-068636

New isolates J1 and J7 of hepatitis C virus - contg. specified DNA and  
amino acid sequences, used in diagnosis, recombinant protein prodn. and  
vaccine

Patent Assignee: CHIRON CORP (CHIR ); NAT INST HEALTH JAPAN (NAHE-N); NAT  
INST HEALTH JAP (NAHE-N); OYA A (OYAA-I); KOKURITSU YOBO EISEI KENKYUSHO  
(KOKU-N)

Inventor: CHA T; HAN J; HOUGHTON M; IRVINE B D; KOLBERG J A; MIYAMURA T;  
SAITO I; WEINER A J; CHA T A; SAITO T

Number of Countries: 017 Number of Patents: 009

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
EP 419182	A	19910327	EP 90310149	A	19900917	199113 B
WO 9104262	A	19910404				199116
PT 95329	A	19910814				199136
JP 5506773	W	19931007	JP 90513188	A	19900914	199345
			WO 90US5242	A	19900914	
JP 9187285	A	19970722	JP 90513188	A	19900914	199739
			JP 96282753	A	19900914	
EP 419182	B1	20000119	EP 90310149	A	19900917	200009
			EP 99101746	A	19900917	
DE 69033425	E	20000224	DE 633425	A	19900917	200017
			EP 90310149	A	19900917	
CA 2065287	C	19991221	CA 2065287	A	19900914	200020
			WO 90US5242	A	19900914	
ES 2141081	T3	20000316	EP 90310149	A	19900917	200021

Priority Applications (No Type Date): US 89456142 A 19891221; US 89408045 A  
19890915

Cited Patents: EP 318216; EP 388232; EP 293274; US 4428941; US 4673634; US  
4870026

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
-----------	------	-----	----	----------	--------------

EP 419182	A		109		
-----------	---	--	-----	--	--

Designated States (Regional): AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

EP 419182	B1 E		C12N-015/51	Related to application EP 99101746
				Related to patent EP 939128

Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

DE 69033425	E		C12N-015/51	Based on patent EP 419182
CA 2065287	C E		C12N-015/51	Based on patent WO 9104262
ES 2141081	T3		C12N-015/51	Based on patent EP 419182
WO 9104262	A			

Designated States (National): CA JP  
Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB IT LU NL SE  
JP 5506773 W C12N-015/51 Based on patent WO 9104262  
JP 9187285 A 60 C12N-015/09 Div ex application JP 90513188

Abstract (Basic): EP 419182 A

A DNA molecule having a nucleotide sequence of at least 15 base pairs from a hepatitis C virus isolate is claimed. The sequence of homologous to an isolate of J1 or J7 and distinct from that of the HCV isolate.

The corresponding polypeptide is also claimed, and the amino acids homologous to J7 may be amino acids 1-115, and those of J1 may be 116-350, 351-651, 1007-1650 or 2100- the end of the coding sequence.

Also claimed is the production of a recombinant polypeptide containing the HCV amino acid sequence by transforming host cells with a DNA construct containing the HCV isolate. The biological materials produced are deposited under 11 accession numbers, including BP-2593.

Administration for a vaccine is preferably by subcutaneous or intramuscular injection, but may be oral or via e.g. suppository. Dosage is 5-250 mg antigen/dose, single or multiple.

USE/ADVANTAGE - The polypeptide is used in an immunoassay for detecting anti-HCV antibodies or an HCV polypeptide in a sample of e.g. human blood. The DNA molecule may act as a probe in detecting HCV polynucleotides, in nucleic acid hybridisation assays and producing viral polypeptides.

Dwg.1c/18

Title Terms: NEW; ISOLATE; HEPATO; VIRUS; CONTAIN; SPECIFIED; DNA; AMINO; ACID; SEQUENCE; DIAGNOSE; RECOMBINATION; PROTEIN; PRODUCE; VACCINE

Derwent Class: B04; D16; S03

International Patent Class (Main): C12N-015/09; C12N-015/51

International Patent Class (Additional): A61K-038/00; A61K-039/29;

C07H-021/04; C07K-001/18; C07K-004/02; C07K-013/00; C07K-015/28;

C12N-001/21; C12P-021/02; C12P-021/08; C12Q-001/68; C12Q-001/70;

G01N-033/53; G01N-033/566; G01N-033/569; G01N-033/57; G01N-033/576;

G01N-033/577; C12R-001-19

File Segment: CPI; EPI

Manual Codes (CPI/A-N): B02-V02; B04-B02B4; B04-B04A1; B04-B04C; B04-C01;

B11-C07A; B11-C08E; B12-A06; B12-K04A4; D05-C11; D05-H06; D05-H07;

D05-H12

Manual Codes (EPI/S-X): S03-E14H4

Chemical Fragment Codes (M1):

\*01\* M423 M710 M903 Q233 V753

\*02\* D011 D601 F012 F015 F423 F521 G010 G013 G100 H1 H100 H101 H181 H182

H4 H401 H441 H481 H498 H5 H598 H8 H9 J0 J011 J012 J1 J111 J171 J172

J3 J371 K0 L2 L250 M210 M211 M271 M280 M281 M311 M312 M313 M314 M315

M320 M321 M331 M332 M333 M340 M342 M343 M349 M371 M381 M391 M423

M510 M511 M520 M521 M530 M531 M540 M710 M781 M903 N102 N135 P210

P831 Q233 V902 V917 V921

\*03\* M423 M710 M750 M903 N102 N135 Q233 V600 V611

Chemical Fragment Codes (M6):

\*04\* M903 P210 P831 Q233 R515 R520 R521 R622 R630

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-187285

(43)公開日 平成9年(1997)7月22日

(51)IntCl. <sup>a</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 15/09 1/21	Z N A	9282-4B	C 1 2 N 15/00 1/21	Z N A A
C 1 2 P 21/02			C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 Q 1/68		7823-4B	C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 33/53			G 0 1 N 33/53	D
審査請求 未請求 請求項の数22 O L (全 60 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号 特願平8-282753  
(62)分割の表示 特願平2-513188の分割  
(22)出願日 平成2年(1990)9月14日  
  
(31)優先権主張番号 4 0 8, 0 4 5  
(32)優先日 1989年9月15日  
(33)優先権主張国 米国 (U S)  
(31)優先権主張番号 4 5 6, 1 4 2  
(32)優先日 1989年12月21日  
(33)優先権主張国 米国 (U S)

(71)出願人 591222245  
国立予防衛生研究所長  
東京都新宿区戸山一丁目23番1号  
(71)出願人 591076811  
カイロン コーポレーション  
アメリカ合衆国, カリフォルニア 94608,  
エミリービル, ホートン ストリート  
4560  
(72)発明者 宮村 達男  
東京都 杉並区 浜田山 4-21-22-  
113  
(74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規のHCV分離株

(57)【要約】

【課題】 新規な単離株に由来するC型肝炎(HCV)の診断に有用なポリヌクレオチドおよびポリペプチドを提供する。

【解決手段】 HCVの新規な単離株J1またはJ7に由来するポリヌクレオチドのためのプローブおよびプライマー、ならびにJ1またはJ7に対する抗体を検出するためのポリペプチド。このプローブおよびプライマーは、本願開示のJ1またはJ7のポリヌクレオチド配列から得られる、少なくとも8個のヌクレオチドの連続する配列を含み、この少なくとも8個のヌクレオチドの連続する配列は、単離株HCV1のヌクレオチド配列とは相同ではない。上記ポリペプチドは、J1またはJ7に対する抗体によって結合され得る抗原決定基を含有する、少なくとも10個のアミノ酸の連続配列をふくみ、この連続配列は、本願開示のJ1またはJ7のアミノ酸配列から得られるが、HCV1配列の対応するアミノ酸配列と比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 J7 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図14から図16において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして89、99、111、116、125、129、156、168、171、183、216、219、231、237、240、267、270、273、276、279、297、327、333、362、372、387、393、408、419、420、444、471、501、507、519、520、522、525、546、および552からなる群より選択される。

【請求項2】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図17から図19において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして1、19、20、22、25、46、52、67、94、95、97、100、124、125、130、136、139、142、148、149、151、154、160、163、166、167、179、180、181、182、184、188、190、196、202、205、208、212、214、220、223、232、241、244、246、247、251、256、259、262、271、274、283、287、288、292、293、298、299、301、304、310、314、316、319、322、326、328、331、332、338、342、345、346、347、353、355、359、361、362、364、370、374、379、380、385、388、393、394、397、398、400、401、406、409、412、413、415、427、430、436、442、445、448、449、452、453、457、472、475、476、478、481、484、485、486、490、491、492、493、496、498、499、505、511、526、527、530、532、535、538、547、571、574、578、および580からなる群より選択される。

【請求項3】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、そして該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図20および図21において同定されるヌクレオチド位置に対応し、9、12、16、18、21、24、27、28、31、33、37、39、57、58、61、70、72、75、78、81、96、103、105、108、111、113、114、135、141、142、145、147、151、156、159、171、176、178、180、185、189、192、198-204、211-216、220、221、223、225-230、235、237-239、243、246、249-252、258、259、261、267、268、270、279、291、292、297、300、303、321-323、328、330、333、336、338-340、342、345、347、および351からなる群より選択される。

【請求項4】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なく

とも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図22から図24において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして4、10、16、19、22、31、37、50、52、55、58、70、76、78、79、82、83、85、91、97、100、103、109、112、115、118、121、136、138、140、141、151、154、161、163、166、169、172、175、181、183、184、193、196、199、205、214、223、253、259、260、262、269、271、274、277、281、283、286、289、292、296、298、304、319、321、324、332、340、352、355、361、370、371、373、382、389、390、391、394、397、401、403、406、418、430、439、446、448、451、454、457、469、472、485、487、490、493、496、502、505、508、511、520、529、532、535、538、541、544、547、556、557、565、568、574、575、および577からなる群より選択される。

【請求項5】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図25から図27において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして16、19-21、28、32、34、52、70、88、96、100、106、107、115、124、133、136、142-144、146、152、158、159、163、166、173、175、181、187、188、190、205、214、217、226、234、235、241、244、256、259、277、295、298、310、311、321、324、337、348、349、358、365、367、370、381、385、389、392、393、397、400、406、411、および412からなる群より選択される。

【請求項6】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図60から図62において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして1-3、10、13、16、18-20、22、25、27、31、37-40、53、55、58、61、64、67、71、73、74、76、85、88、89、92、95、96、98、100、103、112、118、121、126、127、133、134、136-141、143、144、146、148、155、157、160、163、176、178、181-183、186、187、190、196、199、206、207、209、210、211、217、223、226、238、241、247、250、253、259、268、269、271、273、274、280、283、286、289、291、298、301、307、316、317、319、320、325、331、334、335、340、345、346、352、および361からなる群より選択される。

【請求項7】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なく

とも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図63から図68において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして1、19、20、22、25、46、52、67、94、95、97、100、124、125、136、139、142、148、149、151、154、160、163、166、167、179、180、181、182、184、188、190、196、202、205、208、212、214、220、223、232、241、244、246、247、251、256、257、259、262、271、274、283、287、288、292、293、298、299、301、304、310、314、316、319、322、326、328、331、332、338、342、345-347、353、355、359、360、361、362、364、370、374、379、380、385、388、393、394、397、398、400、401、406、409、412、413、415、427、430、436、442、445、448、449、452、453、457、472、475、476、478、481、484-486、490-493、496、498、499、505、511、526、527、530、532、535、538、547、571、574、578、580、583、586、589、590、593、595、599、601、619、620、623、632、634、637、640、643、658、665、667、670、673、675、676、697、703、704、707、709、713、718、721、733、738、740、742、747、751、754、760-766、773-778、782-785、787-792、797、799-801、805、808、811-815、820、821、823、829、830、832、841、853、854、859、862、865、883-885、890、892、895、898、900-902、904、907、909、913、919-923、935、937、940、943、946、949、953、955、956、958、967、970、971、974、977、978、980、982、985、994、1000、1003、1008、1009、1015-1026、1028、1030、1037、1039、1042、1045、1058、1060、1063-1065、1068、1069、1072、1078、1081、1088、1089、1091-1093、1099、1105、1108、1120、1123、1129、1132、1135、1141、1151、1153、1155、1156、1162、1165、1168、1171、1173、1180、1183、1189、1198、1199、1201、1202、1207、1213、1216、1217、1222、1227-1228、1234、および1243からなる群より選択される。

【請求項8】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図69および図70において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして8、17、23、32-35、41、50-52、61、62、65、68、72、73、80、85、86、99、102、103、113、116、125、129-131、135-137、143、147、149-152、155、158、161、164、167、171、173、179、186、191、200、203、209、215、218、221、224、227、228、235、236、242、245、248、249、251、260、266、269、272、および275からなる群より選択される。

【請求項9】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図71から図76において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして3799、3801、3813、3819、3821、3825、3828、3837、3840、3846、3849、3852、3855、3861、3864-3866、3873、3888、3889、3909、3912、3918、3927、3936、4134-4137、4144、4149、4151、4152、4164、4167、4182、4188、4200、4206、4222-4224、4227、4228、4230、4233、4234、4248、4251、4266、4278、4281、4284、4290、4293、4296、4299、4311、4314、5134、5136-5139、5143、5145、5148、5157、5160、5163、5167、5168、5181、5196、5202、5203、5205、5211、5214、5217、5218、5221-5223、5226、5229、5234、5236-5238、5241、5244-5246、5249-5253、5255-5257、および5260-5265からなる群より選択される。

【請求項10】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図77および図78において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして2、23、39、47、87、101、106、118、160、175、178、194、202、223、229、230、242、244、247、251、277、291、295、316、322、および331からなる群より選択される。

【請求項11】 J1 HCVゲノムまたはその相補体の少なくとも8個の連続するヌクレオチドからなるオリゴマーを含む、実質的に単離された形態のプライマーまたはプローブであって、該連続するヌクレオチド配列が、X位のヌクレオチドを包含する、プライマーまたはプローブ、ここで、Xは図79および図80において同定されるヌクレオチド位置に対応し、そして169、266、276、293、299、318、345、348、373、390、393、396、414、417、444、447、450、453、456、474、476、490、531、538、539、540、および549からなる群より選択される。

【請求項12】 少なくとも15個のヌクレオチドを含む、請求項1～11のいずれかに記載のプライマーまたはプローブ。

【請求項13】 少なくとも20個のヌクレオチドを含む、請求項12に記載のプライマーまたはプローブ。

【請求項14】 テスト試料中のHCVポリヌクレオチドを検出する方法であって、

(a)請求項1～13のいずれかに記載のプローブを提供する工程、

(b)該プローブとその相補体との間でポリヌクレオチド二重鎖を形成させ、該テスト試料中に存在する非HCVポリヌクレオチド配列と該プローブとの間で実質的なポリ



ヌクレオチド二重鎖の形成が無い条件下で、該テスト試料と該プローブとを接触させる工程、および  
(c)該プローブを含有するいかなるポリヌクレオチド二重鎖をも検出する工程、を包含する、方法。

【請求項15】 受託番号FERM BP-2593、FERM BP-2594、FERM BP-2595、FERM BP-2637、FERM BP-2638、FERM BP-3081、ATCC No.68392、ATCC No.68393、ATCC No.68394、ATCC No.68395、ATCC No.40884で寄託されている材料からなる群由来のHCV由来の材料を含有する生物学的材料。

【請求項16】 少なくとも10個のアミノ酸の連続配列を含有する、精製されたポリペプチドであって、該連続配列が、

(a)図14から図16、図17から図19、図20および図21、図22から図24、図25から図27、図60から図62、図63から図68、図69および図70、図71から図76、図77および図78、または、図79および図80に示されるJ1またはJ7アミノ酸配列から得られ、

(b)HCV-J1またはHCV-J7に対する抗体によって結合され得る抗原性決定基を含有し、そして

(c)図29から図59に示されるHCV-1配列の対応する部分によりコードされるアミノ酸と比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、ポリペプチド。

【請求項17】 前記連続する配列が少なくとも15個のアミノ酸からなる、請求項16に記載のポリペプチド。

【請求項18】 前記連続する配列が少なくとも20個のアミノ酸からなる、請求項16に記載のポリペプチド。

【請求項19】 化学的に合成される、請求項16に記載のポリペプチド。

【請求項20】 固体支持体上に固定されている、請求項16～19のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項21】 テスト試料中の抗HCV抗体の存在を検出するための方法であって、

(a)請求項16～20のいずれかに記載のポリペプチドとともに、抗原-抗体複合体を形成する条件下で、該テスト試料をインキュベートする工程であって、ここで、該ポリペプチドが、HCV-1に対する抗体と免疫学的に交差反応しない、工程、および

(b)形成したいかなる抗原-抗体複合体をも検出する工程、を包含する、方法。

【請求項22】 前記テスト試料がヒト血液またはその画分を含む、請求項21に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、新規のC型肝炎ウイルス分離株、それ由来のポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび抗体、ならびに、アッセイ(例えば、イムノアッセイ、核酸ハイブリダイゼーションアッセイ)およびウイルスポリペプチドの製造における、このようなポ

リペプチド、ポリヌクレオチドおよび抗体の使用に関する。

【0002】

【従来の技術】非A、非B型肝炎(NANBH)は、感染性疾患、あるいはウイルスによって起こると考えられている疾患のファミリーである。これは、公知の肝炎ウイルス、すなわちA型肝炎ウイルス(HAV)、B型肝炎ウイルス(HBV)、およびデルタ肝炎ウイルスによって起こる他の型のウイルス関連の肝臓疾患、ならびにサイトメガロウイルス(CMV)あるいはエプスタインバーウイルス(EBV)によって起こる肝炎とは区別し得る。NANBHは、最初は輸血された患者に検出された。ヒトからチンパンジーへの感染およびチンパンジーでの連続継代で、NANBHが伝染性の(単数あるいは複数の)感染因子によることの確証が提供された。疫学的証拠によってNANBHには3つの型が存在し得ることが示唆されている。すなわち;水媒介性の流行型;血液あるいは針に関連する型;および散発的に発生する(コミュニティが罹患する)型である。しかし、最近までNANBHの原因である感染因子は同定されていなかった。

【0003】NANBHの臨床診断および同定は、主に他のウイルスマーカーを除くことによってなされてきた。推定されるNANBHの抗原および抗体を検出するのに用いられる方法には、寒天ゲル拡散法、カウンターカレント免疫電気泳動法、免疫蛍光顕微鏡法、免疫電子顕微鏡法、ラジオイムノアッセイ、およびELISA法がある。しかし、これらのアッセイはいずれも、NANBHの診断テストとして用いられるには十分な感度、特異性、ならびに再現性を示さなかった。

【0004】最近まで、NANBH因子に関連する抗原抗体系の同定あるいは特異性は明瞭確実にはされていなかった。NANBHは1つより多い感染因子によることは可能であって、血清学的アッセイによってNANBHを有する患者の血清に何が検出されているか明かではない。

【0005】かつては、NANBH因子であると考えられる多くのものが推測された。例えば、Prince (1983) Ann. Rev. Microbiol. 37:217; FeinstoneおよびHoofnagle (1984) New Eng. J. Med. 311:185; Overby (1985) Curr. Hepatol. 5:49; Overby (1986) Curr. Hepatol. 6:65; Overby (1981) Curr. Hepatol. 7:35およびIwarson (1987) British Med. J. 295:946を参照のこと。しかし、これらのいずれにも、NANBHの病因物質であることを示す証拠はない。

【0006】1987年に、Houghtonらは、確実にNANBHに関連するウイルスをクローン化した。例えば、欧州特許公開第318,216号; Houghtonら、Science 244:359 (1989)を参照のこと。Houghtonらは、そこで、新しいウイルスクラスであるC型肝炎ウイルス(HCV)の分離株のクローニングを開示しており、そのプロトタイプ分離株を「HCV1」と命名している。HCVは、RNAゲノムを有するフ

ラビ様ウイルスである。Houghtonらは、診断試薬として有用なHCV配列からの組換えタンパク質の製造、ならびに、診断用のハイブリダイゼーションアッセイおよび他のHCV分離株のクローニングに有用なポリヌクレオチドの製造について記載している。

【0007】NANBH保持者およびNANBHに汚染した血液あるいは血液製剤のスクリーニングおよび同定に感度のよい特異的な方法の必要性は重大である。輸血後肝炎(PT H)は輸血患者の約10%に起こり、NANBHが、これらの最高90%を占める。しばしば慢性の肝臓障害に進行する(25~55%)。

【0008】患者の治療、ならびに血液および血液製剤による、あるいは個人間の密接な接触によるNANBH感染の予防には、NANBH関連の核酸、抗原および抗体を検出する確実な診断手段および予後診断手段が必要とされる。さらに、この疾患を予防および/あるいは処置するための効果的なワクチンおよび免疫治療学的な治療剤の必要性がある。

【0009】前述の必要性をみたす有用な少なくとも1つのHCV分離株の同定がなされたが、別の分離株、特にゲノムが相違を有する分離株は新規の応用性を有することを証明し得る。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】新規なHCV分離株の核酸、抗原および抗体を検出する確実な診断手段および予後診断手段を提供する。さらに、新規なHCV分離株による疾患を予防および/あるいは処置するための効果的なワクチンおよび免疫治療学的な治療剤を提供する。

【0011】

【課題を解決するための手段】NANBH保持者と考えられる日本人の血液提供者からのHCVの新規分離株を特徴付けた。これらの分離株は、数種のウイルスタンパク質において、プロトタイプ分離株であるHCV1とはヌクレオチド配列およびアミノ酸配列の異質性(heterogeneity)を示す。これらの異なる配列が特に診断アッセイおよびワクチンの開発に重要であると考えられている。

【0012】1つの実施態様において、本発明は、グループJ1あるいはJ7から選択される分離株と実質的に相同であるHCV分離株の少なくとも15bpのヌクレオチド配列を含有するDNA分子を提供する。このヌクレオチド配列は、HCVの分離株HCV1のヌクレオチド配列とは異なる。

【0013】他の実施態様では、本発明は、HCV分離株J1あるいはJ7のアミノ酸配列をコードする少なくとも15bpのヌクレオチド配列を含有するDNA分子を提供する。ここで、このJ1あるいはJ7のアミノ酸配列は、HCVの分離株HCV1のアミノ酸配列とは異なる。

【0014】さらに本発明の他の実施態様では、グループJ1およびJ7から選択される分離株と実質的に相同なHCV分離株のアミノ酸配列を含有する精製ポリペプチドを提供する。ここで、このアミノ酸配列はHCV分離株のHCV

1のポリペプチドの配列とは異なる。

【0015】さらに本発明の他の実施態様では、HCVの分離株のJ1あるいはJ7のアミノ酸配列を含有するポリペプチドを提供する。ここで、このJ1あるいはJ7のアミノ酸配列はHCV分離株のHCV1のアミノ酸配列とは異なり、このポリペプチドは固体支持体に固定される。

【0016】さらに本発明の実施態様では、テスト試料中の抗HCV抗体の存在を検出する、下記の(a)および(b)の工程を包含するイムノアッセイを提供する：(a)グループJ1およびJ7から選択される分離株と実質的に相同なHCV分離株のアミノ酸配列であって、HCV分離株HCV1のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含有する免疫原性ポリペプチドとともに、抗原-抗体複合体を形成する条件下で、テスト試料をインキュベートする工程；および(b)この免疫原性ポリペプチドを含有する抗原-抗体複合体を検出する工程。

【0017】本発明はさらに、HCVのエピトープに結合しない抗体を実質的には含有していない、HCVのエピトープに結合する抗HCV抗体を含有する組成物を提供する：ここで、(a)HCVのエピトープは、グループJ1およびJ7から選択される分離株と実質的に相同であるHCV分離株のアミノ酸配列を含有し、このアミノ酸配列は、HCV分離株HCV1のアミノ酸配列とは異なる；および(b)このJ1あるいはJ7のアミノ酸配列は、HCV1とは免疫学的に交差反応しない。

【0018】本発明のもう1つの実施態様では、下記の(a)および(b)の工程を包含する、テスト試料中のHCVポリペプチドの存在を検出するイムノアッセイを提供する：(a)HCVのエピトープに結合する抗HCV抗体とともに、抗原-抗体複合体を形成する条件下でテスト試料をインキュベートする工程；ここで、(i)このHCVのエピトープは、HCV分離株J1あるいはJ7のアミノ酸配列を含有する；(ii)このJ1あるいはJ7のアミノ酸配列はHCV分離株HCV1のアミノ酸配列とは異なる；および(iii)このJ1あるいはJ7のアミノ酸配列は免疫学的にHCV1とは交差反応しない；および(b)抗HCV抗体を含有する抗原-抗体複合体を検出する工程。

【0019】さらに本発明によって、哺乳動物に、HCVの分離株HCV1のアミノ酸配列とは異なる、HCVの分離株J1あるいはJ7のアミノ酸配列を含有するポリペプチドを投与し、そしてこの哺乳動物が抗HCV抗体を産生することを包含する、抗HCV抗体を生産する方法を提供する。

【0020】本発明のもう1つの実施態様では、下記の(a)、(b)および(c)の工程を包含する、テスト試料中のHCVポリペプチドを検出する方法を提供する：(a)請求項1に記載のDNA分子を含有するプローブを提供する工程；(b)テスト試料中に存在するHCVのポリヌクレオチドではない配列とプローブとのポリヌクレオチド二重鎖の実質的な形成がなされない、プローブとその相補体間でのポリヌクレオチドの二重鎖を形成させる条件下

で、テスト試料とプローブとを接触させる工程；および(c)このプローブを含有するポリヌクレオチドの二重鎖を検出する工程。

【0021】さらに別の本発明の実施態様では、下記の(a)、(b)および(c)の工程を包含する、HCVアミノ酸配列を含有する組換えポリペプチドを生産する方法を提供する：(a)HCV分離株J1あるいはJ7のアミノ酸配列をコードするコード配列に作動可能に結合された宿主細胞の制御配列を含有するDNA構築物によって形質転換された宿主細胞を提供する工程。ここで、このJ1あるいはJ7のアミノ酸配列はHCV分離株HCV1のアミノ酸配列とは異なる；(b)このコード配列が組換えポリペプチドに転写および翻訳される条件下で宿主細胞を増殖させる工程；および(c)組換えポリペプチドを回収する工程。

【0022】本発明のこれらの実施態様および他の実施態様は、当分野の通常の技術を有する当業者には下記の記載において容易に明白になる。

【0023】

【発明の実施の形態】本発明の実施においては、特に断わりのない限り、当分野の技術範囲内である、分子生物学、微生物学、組換えDNA技術、および免疫学の通常技術を使用する。このような技術は、文献に詳細に記載されている。例えば、Maniatis, FritschおよびSambrookのMOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL (1982)；DNA CLONING, VOLUMES I AND II (D.N. Glover編集、1985)；OLIGONUCLEOTIDE SYNTHESIS (M.J. Gait編集、1984)；NUCLEIC ACID HYBRIDIZATION (B.D. HamesおよびS.J. Higgins編集、1984)；TRANSCRIPTION AND TRANSLATION (B.D. HamesおよびS.J. Higgins編集、1984)；ANIMAL CELL CULTURE (R.I. Freshney編集、1986)；IMMOBILIZED CELLS AND ENZYMES (IRL Press, 1986)；B. PerbalのA PRACTICAL GUIDE TO MOLECULAR CLONING (1984)；METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.)のシリーズ；GENE TRANSFER VECTORS FOR MAMMALIAN CELLS (J.H. MillerおよびM.P. Calos編集、1987, Cold Spring Harbor Laboratory), Methods in Enzymology Vol. 154およびVol. 155 (それぞれWuおよびGrossman編集、Wu編集)、MayerおよびWalker編集(1987)のIMMUNOCHEMICAL METHODS IN CELL AND MOLECULAR BIOLOGY (Academic Press, London)、Scopes(1987)のPROTEIN PURIFICATION: PRINCIPLES AND PRACTICE, Second Edition (Springer-Verlag, N.Y.)、およびHANDBOOK OF EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, VOLUMES I-IV (D.M. WeirおよびC.C. Blackwell編集、1986)、を参照。前出および後出の、本明細書に記載の全ての特許、特許出願およびその他の出版物を、参考文献として援用する。

【0024】「C型肝炎ウイルス」は、以前は未知であった非A非B肝炎(NANBH)の病因物質のために、当分野の研究者が用意しておいた用語である。従って本明細書で用いる「C型肝炎ウイルス」(HCV)とは、Houghtonら

が記載したプロトタイプ分離株HCV1クラスから、NANBVおよび/あるいはBB-NANBVと以前は呼ばれていたNANBHの原因物質を指す。例えば、本明細書でその開示を参考文献として援用する、欧州特許公開第318,216号、および1989年5月19日付の米国特許出願第355,002号(同じ優先権を有する米国以外の特許出願が入手できる)を参照。HCV1のヌクレオチド配列および推定アミノ酸配列は、図14～図16に示した。本明細書では、用語HCV、NANBV、およびBB-NANBVは互換可能に用いられる。この用語法の延長として、以前の非A非B肝炎(NANBH)と呼ばれていた、HCVによる疾患をC型肝炎と呼ぶ。用語、NANBH(非A非B肝炎)およびC型肝炎は、本明細書では互換可能に使用し得る。本明細書で用いる用語「HCV」は、その病原株がNANBHを引き起こす、ウイルス種、および弱毒化株あるいはそれらに由来する不完全な干渉粒子を指す。

【0025】HCVは、Flavi様のウイルスである。フラビウイルス粒子の形態および形成は公知で、Brinton(1986)の、THE VIRUSES: THE TOGAVIRIDAE AND FLAVIVIRIDAE (Fraenkel-ConratおよびWagnerシリーズ編集、SchlesingerおよびShelesinger巻編集、Plenum Press), p. 327～374に記載されている。形態に関しては、一般にフラビウイルスは、脂質二重層に包まれた中心ヌクレオカプシドを含んでいる。ビリオンは球状で、そして約40～50nmの直径を有している。これらのコアは、約25～30nmの直径である。ビリオンエンベロープの外部表面に沿って、直径約2nmのノブを末端に有する、約5～10nmの長さの放射状突起物がある。

【0026】HCVゲノムはRNAからなる。RNAを含んだウイルスは、比較的高い自然変異度を有することが知られている。即ち、取り込まれるヌクレオチド一個当たり $10^{-3}$ から $10^{-4}$ の確率であると報告されている。従って、HCVのクラスあるいは種の中に、病原性あるいは非病原性の多くの株が存在する。

【0027】HCV分離株のゲノムは、HCV1と大きさが似たポリタンパク質をコードし、コードされたポリタンパク質がHCV1と類似の疎水性および抗原性の特徴を有し、そして、HCV1で保存されているほぼ連続している(co-linear)ペプチド配列の存在する、約9,000ヌクレオチドから約12,000ヌクレオチドの単一のORFからなると考えられている。加えて、このゲノムは、+(ポジティブ)鎖RNAであると考えられている。

【0028】HCV単離株は、HCV1ゲノム中のエピトープと免疫学的に交差反応するエピトープを包含する。他の既知のフラビウイルスと比較したときに、これらの内の少なくともいくつかのエピトープはHCVに特有なものである。エピトープの特異性は、抗HCV抗体との免疫学的反応性、および他のフラビウイルス種に対する抗体に対する反応性の欠如により決定される。免疫学的反応性を調べる方法は、例えば、ラジオイムノアッセイによる方



法、ELISAアッセイによる方法、血球凝集反応による方法が当分野で公知であり、そしてアッセイ用の適切な技法のいくつかの実施例が、本明細書で提供される。

【0029】さらに、ヌクレオチドレベルでのHCV単離株とHCV1ゲノムとの総体的な相同性は、恐らく約40%あるいはそれ以上であり、恐らく約60%あるいはそれ以上、そして約80%から約90%あるいはそれ以上であることがより可能性が高いと考えられている。加えて、多くの対応する完全に相同な、少なくとも約13ヌクレオチドの連続する配列が存在する。新しい分離株からの配列とHCV1配列との間の対応は、当分野で公知の技術により調べ得る。例えば、新しい分離株からのポリヌクレオチドの配列情報とHCV1配列の直接比較により調べ得る。あるいは、相同な領域で安定な二重鎖を形成するような条件下でポリヌクレオチドをハイブリダイゼーションし(例えば、S1消化に先立ち使用されるもの)、次いで一本鎖特異的なヌクレアーゼ(一つあるいは複数)で消化し、次いで消化した断片のサイズ決定により、相同性を調べ得る。

【0030】HCV株間の、あるいはHCV単離株間の進化的関係から、ポリヌクレオチドレベルでの相同性により、HCVと推定される株あるいは分離株は同定可能である。従って、新しいHCV分離株はポリヌクレオチドレベルで、約40%より高い相同性が予期され、恐らくは約70%より高い相同性であり、約80%より高い相同性である可能性が高い。アミノ酸配列の相同性を調べる方法は当分野での公知である。例えば、アミノ酸配列を直接配列決定し、そして本明細書で提供される配列と比較し得る。あるいは、HCVと予測されるゲノム物質のヌクレオチド配列を決定し、それにコードされているアミノ酸配列を決定し、そして対応する領域を比較し得る。

【0031】HCV1のORFを図29～図59に示した。HCV1のポリタンパク質の非構造ドメイン、コアドメイン、およびエンベロープドメインが予測されている(図12および図13)。「C」すなわちコアのポリペプチドは、HCV1の5'末端から345ヌクレオチドにコードされていると考えられている。HCV1の推測される「E」すなわちエンベロープドメインは、約346番目のヌクレオチドから約1050番目のヌクレオチドにコードされていると考えられている。推測されるNS1すなわち非構造1ドメインは、約1051番目のヌクレオチドから約1953番目のヌクレオチドにコードされていると考えられている。残りのドメインに関しては、推測されるNS2は約1954番目のヌクレオチドから約3018番目のヌクレオチドに、推測されるNS3は約3019番目のヌクレオチドから約4950番目のヌクレオチドに、推測されるNS4は約4951番目のヌクレオチドから約6297番目のヌクレオチドに、そして推測されるNS5はヌクレオチド6298から3'末端にコードされていると、各々考えられている。上記の境界は、ORFの分析に基づく近似値である。本明細書の開示の観点から当業者

は、正確な境界を同定し得る。

【0032】「HCV/J1」あるいは「J1」、および、「HCV/J7」あるいは「J7」は、本明細書に開示されたヌクレオチド配列により特徴付けられる新しいHCVの分離株、およびそれと実質的に相同的な；即ち、ヌクレオチドレベルで少なくとも約90%あるいは約95%相同の、関連した分離株を指す。本明細書に開示されている配列は、日本および他のアジアおよび/あるいは環太平洋諸国で大勢を占めるHCVのサブクラスを特徴付ると考えられている。別のJ1およびJ7分離株は、本明細書および欧州特許公開第318,216号に開示された観点から得られ得る。特に、本明細書に開示したJ1およびJ7のヌクレオチド配列、および図29～図59中のHCV1配列は、J1およびJ7あるいは別の分離株の別のドメインをクローニングするためのプライマーあるいはプローブとして使用し得る。

【0033】本明細書の指定した配列あるいは材料「からの」ヌクレオチド配列は、指定した配列あるいは材料、あるいはそれらの一部分の配列に、相同(即ち、同じ)あるいは相補である、ヌクレオチド配列を指す。本明細書で提供されるJ1の配列は、最小で約6ヌクレオチド、好ましくは約8ヌクレオチド、さらに好ましくは約15ヌクレオチド、そして最も好ましくは20ヌクレオチドあるいはそれ以上である。最大長は、完全なウイルスゲノムである。

【0034】本発明の幾つかの局面では、ポリヌクレオチドが由来する領域の配列は、HCVゲノム、あるいはJ1およびJ7に特有な配列に、相同であるか、あるいは相補的であることが好ましい。ある配列がゲノムに特有であるかどうかは、当業者に公知の技術で同定し得る。例えば、その配列を、Genbankのようなデータベース中の配列と比較し、未感染の宿主中あるいは他の微生物中に存在しているかどうかを確認し得る。さらにこの配列を、例えばHAV、HBV、およびHDVのような肝炎を引き起こすことが知られているもの、およびフラビウイルスの他の種を包含する、他のウイルス物質の既知の配列とも比較し得る。派生した配列が、他の配列と対応するか、あるいは対応しないかは、適切なストリンジェンシー条件下でハイブリダイゼーションすることで同定し得る。核酸配列の相補性を調べるためのハイブリダイゼーション技術は当分野では公知である。例えば、Maniatisら(1982)のMOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.)をさらに参照。加えて、ハイブリダイゼーションにより形成された二重鎖ポリヌクレオチドのミスマッチは、たとえば、二重鎖ポリヌクレオチドの中的一本鎖部分を特異的に消化するS1のようなヌクレアーゼで消化することを含む、公知の技術で同定し得る。典型的なDNA配列が派生し得る領域には、これらに限定されないが、特異的エピトープをコードする領域、および非転写領域および/あるいは非翻訳領域がある。

【0035】J1あるいはJ7のポリヌクレオチドは、示したヌクレオチド配列から直接取らなくても良く、例えば、化学合成、あるいはDNA複製、あるいは逆転写、あるいは転写、を含む任意の方法で生成し得る。加えて、指定された配列の領域に対応する領域の組み合わせは、意図した使用法と矛盾しないように、当分野で公知の方法で改変し得る。ポリヌクレオチドは、当業者に公知の標識物の一つあるいはそれ以上含み得る。

【0036】指定したポリヌクレオチドあるいはポリペプチドの材料「からの」アミノ酸配列は、指定したポリペプチドの配列、あるいはその一部分の配列に、相同(即ち、同じ)である、アミノ酸配列を意味する。指定された核酸配列「からの」アミノ酸配列は、その配列にコードされたポリペプチド、あるいはその一部分と同じアミノ酸配列を有するポリペプチドを指す。本発明のポリペプチド中の、J1あるいはJ7のアミノ酸配列は、その長さが、少なくとも約5個のアミノ酸、好ましくは少なくとも約10個のアミノ酸、さらに好ましくは少なくとも15個のアミノ酸、そして最も好ましくは少なくとも約20個のアミノ酸である。

【0037】本発明のポリペプチドは、必ずしも指定された核酸配列から翻訳される必要はない；ポリペプチドは、例えば、化学合成、あるいは組換え発現系による発現、あるいはウイルスからの単離を含む任意の方法で生成し得る。ポリペプチドは、アミノ酸アナログ、あるいは非天然アミノ酸を、一つあるいはそれ以上含み得る。配列にアミノ酸アナログを挿入する方法は、当分野で公知である。さらにポリペプチドは、当業者に公知の標識物の一つあるいはそれ以上含み得る。

【0038】本明細書で用いる用語「組換えポリヌクレオチド」は、ゲノム、cDNA、半合成、あるいは合成、の起源のポリヌクレオチドであって、その起源あるいは操作のために；(1)それが天然で結合しているポリヌクレオチド以外のポリヌクレオチドに結合されているもの；あるいは(2)天然には存在しないものを意図している。

【0039】本明細書で用いる用語「ポリヌクレオチド」は、任意の長さのポリマー型のヌクレオチドで、リボヌクレオチドあるいはデオキシリボヌクレオチドのいずれかをも指す。この用語は、分子の一次構造をのみ指す。従ってこの用語は二本鎖および一本鎖のDNA、およびRNAを指す。さらに、以下に示す既知の種類の改変されたポリヌクレオチドをも改変されない型のポリヌクレオチドと同様に含む。改変には、例えば、当分野で公知の標識、メチル化、「caps」、アナログによる天然ヌクレオチド一つあるいはそれ以上の置換、およびヌクレオチド内の改変が含まれる。ヌクレオチド内の改変には、例えば、非イオン性の結合による改変(例えば、メチルリン酸、リン酸トリエステル、フォスフォアミデート、カルバメート、等)、およびイオン結合による改変(例えば、フォスフォロチオエート、フォスフォロジチオエー

ト、等)、例えば、タンパク質(例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ- $\epsilon$ -リジン、等を含む)のようなペンダント部分を含んだ改変、インターカレーション剤(例えば、アクリジン、ソラレン、等)による改変、キレート剤(例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化性金属、等)を含んだ改変、アルキル化剤を含んだ改変、改変された結合による改変(例えば、 $\alpha$ アノメリック核酸、等)、を含む。

【0040】「精製されたポリヌクレオチド」は、他の成分を実質的に含まない、特定のポリヌクレオチドを含む組成物を指し、そのような組成物は、典型的には少なくとも約70%の特定のポリヌクレオチドを含み、さらに典型的には少なくとも約80%、90%あるいはさらに95%から99%の特定のポリヌクレオチドを含む。

【0041】「精製されたポリペプチド」は、他の成分を実質的に含まない、特定のポリペプチドを含む組成物を指し、この組成物は、典型的には少なくとも約70%の特定のポリヌクレオチドを含み、さらに典型的には少なくとも約80%、90%あるいはさらに95%から99%の特定のポリヌクレオチドからなる。

【0042】「組換え宿主細胞」、「宿主細胞」、「細胞」、「細胞株」、「細胞培養物」、および他のこのような用語は、単一細胞として培養された、組換えベクターあるいは他の転移DNA用の受容細胞として用いられ得るか、あるいは用いられた微生物あるいは高等真核細胞株を指し、そして形質転換された元の細胞の子孫を包含する。一個の親細胞の子孫は、自然の変異、偶然の変異、あるいは意図的な変異等の理由から、形態、あるいは、ゲノム相補性あるいは総DNA相補性において必ずしも完全に親細胞と同じである必要はないことは理解される。

【0043】「レプリコン」は、例えば、プラスミド、クロモソーム、ウイルス、コスミド、等であり、細胞内でポリヌクレオチドの複製を行う自律的単位として働く；即ち、自身の制御下で複製する能力がある、任意の遺伝子エレメントである。

【0044】「クローニングベクター」は、選択された宿主細胞を形質転換し得るレプリコンであり、そして付加されたセグメントの複製、および/あるいは発現が引き起こされるように、他のポリヌクレオチドセグメントが付加されている。典型的なクローニングベクターには、プラスミド、ウイルス(例えば、バクテリオファージベクター)、およびコスミドが含まれる。

【0045】「組み込み用(integrating)ベクター」は、選択された宿主細胞中でレプリコンとしては働かないが、宿主を安定に形質転換するために、選択された宿主中のレプリコン(典型的には、クロモソーム)に駐留物を組み込む(integrate)能力を有するベクターである。

【0046】「発現ベクター」は、選択された宿主細胞を形質転換し得る構築物で、選択された宿主中で異種のコード配列を発現させる。発現ベクターは、クローニン

グベクターあるいは組み込み用ベクターの何れでもよい。

【0047】「コード配列」は、適切な調節配列の制御下に置かれたとき、mRNAに転写される、および／あるいはポリペプチドに翻訳される、ポリヌクレオチド配列である。コード配列の境界は、5'-末端の翻訳開始コドンおよび3'-末端の翻訳停止コドンによって決定される。コード配列は、mRNA、cDNA、および組換えポリヌクレオチド配列を含み得るが、これらに限定はされない。

【0048】「制御配列」は、これらがライゲーションされているコード配列を発現させるのに必要なポリヌクレオチドの調節配列を指す。このような制御配列の特徴は、宿主生物によって異なる。原核細胞では、制御配列は一般にプロモーター、リボソーム結合部位、および転写終結信号を含む。真核細胞では一般的に、制御配列はプロモーター、転写終結信号、および時としてエンハンサーを含む。用語「制御配列」は、発現のためにその存在が必要な全ての構成要素を少なくとも含んでいることを意図し、そして、別の有用な構成要素も含み得る。

【0049】「作動可能に結合された」は、上述の構成要素が意図された様式で機能し得るような関係の、近傍にあることを指す。コード配列と「作動可能に結合された」制御配列は、制御配列と適合した条件下でコード配列の発現がなされるような様式でつながれている。

【0050】「オープンリーディングフレーム」あるいはORFは、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの領域である；この領域は、コード配列の一部分、あるいはコード配列の全体であり得る。

【0051】「免疫学的に交差反応性である」は、同じ抗体が結合する、二つあるいはそれ以上のエпитープ、あるいはポリペプチドを指す。交差反応性は、競合アッセイのような多くのイムノアッセイ法の何れかにより同定され得る。

【0052】本明細書で使用されるように、用語「抗体」は、ポリペプチド、あるいは、少なくとも一つのエピトープを含むポリペプチドの群を指す。「抗原結合部位」は、(単数あるいは複数の)抗体分子の可変領域の折り畳みで形成されて、抗原のエピトープの特性に相補的な内部表面形および荷電分布を有する三次元的な結合部位を形成し、これが特異的な結合を可能にして、抗原抗体複合体を形成する。抗原結合部位は、重鎖および／あるいは軽鎖ドメイン(各々、VHおよびVL)から形成され得、次いで抗原結合に寄与する超可変ループを形成する。用語「抗体」は、キメラ抗体、改変抗体、一価抗体、Fabタンパク質、および単一ドメイン抗体を包含するが、これらに制限はされない。多くの場合、抗体の抗原に対する結合現象は、他のリガンド／抗リガンド結合と同等である。

【0053】本明細書で使用されるように、用語「単一ドメイン抗体」(dAb)は、HLドメインを含む抗体で、指

定された抗原と特異的に結合する。dAbは、VLドメインを含まないが、抗体に存在することが知られている他の抗原結合ドメイン、例えばおおよび入ドメインを含み得る。dAbを調製する方法は当分野で公知である。例えば、Wardら、Nature 341:544(1989)を参照。

【0054】抗体はまた、VHおよびVLドメイン、および他の既知の抗原結合ドメインからなり得る。これらのタイプの抗体の例、およびこれらの調製方法は当分野で公知であり(例えば、本明細書では参考文献として援用する、米国特許第4,816,467号を参照)、そして以下のものが含まれる。例えば、「脊椎動物抗体」は、四量体あるいはその凝集体である、抗体を指し、通常は「Y」型の形態に凝集している、鎖間に共有結合を有しても有さなくともよい、軽鎖および重鎖を含む。脊椎動物抗体では、鎖のアミノ酸配列は、脊椎動物中で産生された抗体に見いだされる配列と、in situあるいはin vitro(例えば、ハイブリドーマ中で)に関わらず、相同である。脊椎動物抗体は、例えば、精製されたポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を含み、これらの調製方法は以下に記載されている。

【0055】「ハイブリッド抗体」は、各鎖が各々、哺乳動物抗体の別々の鎖に対して相同であり、この四量体あるいは凝集体により2つの異なる抗原が沈降するように、これらを新たな集合物にしたものである。ハイブリッド抗体では、一対の軽鎖および重鎖が、第一の抗原に対して作成された抗体に見いだされるそれと相同であり、一方、第二の対の鎖が、第二の抗原に対して作成された抗体に見いだされるそれと相同である。この結果、「二価」の特性がもたらされる、即ち、二つの抗原に同時に結合することができる。このようなハイブリッドは、以下に示すように、キメラ鎖を用いても形成し得る。

【0056】「キメラ抗体」は、重鎖および／あるいは軽鎖が融合タンパク質である抗体を指す。典型的には、鎖のアミノ酸配列の一部分は、特定の種あるいは特定のクラスから由来する抗体の対応する配列に相同で、一方、鎖の残りのセグメントは、他の種および／クラスから由来する配列に相同である。通常、軽鎖および重鎖の両方の可変領域は、一種類の脊椎動物から由来する可変領域あるいは抗体によく似ており、一方、定常部分は、他の種の脊椎動物から由来した抗体の配列に相同である。しかしながら、この用語の定義は、この特定の例に限定されない。材料が異なるクラスあるいは異なる種に由来するかどうかにかかわらず、また融点が可変／定常境界にあるかどうかにかかわらず、重鎖あるいは軽鎖のいずれかあるいは両方が、異なる抗体の配列に似た配列の組み合わせで構成される、任意の抗体も含まれる。従って、定常あるいは可変領域のいずれも既知の抗体配列に似ていない抗体を産生することも可能である。従って例えば、可変領域が特定の抗原に対して高い特異的親和



性を有する抗体、あるいは、定常領域が増大した補体結合作用を示す抗体を構築すること、あるいは、特定の定常領域が有する特性に別の改善を加えることが可能である。

【0057】他の例は「改変抗体」である。これは、脊椎動物の抗体中の天然のアミノ酸配列が変化した抗体を指す。組換えDNA法を用いて、所望の特性が得られるように抗体を再設計し得る。可能なバリエーションは多く、一つあるいはそれ以上のアミノ酸の変化から、例えば定常領域のような、領域の完全な再設計までを含む。定常領域の変化は一般に、例えば、補体結合、細胞膜との相互作用、および他のエフェクター機能、の変化のような所望の細胞性プロセスの特性を得るために行われる。可変領域の変化は、抗原結合特性を変化させるために行い得る。抗体はまた、特定の細胞あるいは組織の部位への、分子あるいは物質の特異的送達を補助するように加工し得る。所望の改変は、例えば、組換え技術、部位特異的変異誘発、等の分子生物学の公知の技術により行い得る。

【0058】さらに別の例は、「一価抗体」である。これは、第二の重鎖のFc(即ち、幹)領域に結合した、重鎖／軽鎖二量体からなる、凝集体である。このタイプの抗体は、抗原変質を免れている。例えば、Glennieら、Nature 295:712(1982)、を参照。抗体の定義に含まれるものにはさらに、抗体の「Fab」断片がある。「Fab」領域は、重鎖および軽鎖の分枝部分を含む配列と、概ね同じか、あるいは類似の重鎖および軽鎖の同部分を指し、そして、特定の抗原に対し免疫学的結合性を示すが、エフェクターであるFc部分を欠いている。「Fab」は、一つの重鎖および一つの軽鎖の凝集体(通常、Fab'として知られている)、および2Hおよび2Lの鎖を含んだ四量体(F(ab)<sub>2</sub>と呼ぶ)を含み、指定した抗原あるいは抗原ファミリーと選択的に反応し得る。Fab抗体は、上述の抗体と同じようにサブセットに、即ち、「脊椎動物Fab」、「ハイブリッドFab」、「キメラFab」、および「改変Fab」、に分類し得る。抗体のFab断片を製造する方法は、当分野で公知であり、例えば、タンパク質分解、および組換え技術による合成が含まれる。

【0059】「エピトープ」は、抗体結合部位を指し、通常はポリペプチドにより定義されるが、非アミノ酸のハプテンでも有り得る。エピトープは、エピトープに特有な空間配置の3個のアミノ酸からなり得、一般にはエピトープは少なくとも5個のこのようなアミノ酸からなり、そしてさらに通常は、少なくとも8〜10個のこのようなアミノ酸からなる。

【0060】「抗原抗体複合体」は、抗原上のエピトープに特異的に結合した抗体により形成された複合体を指す。

【0061】「免疫原性ポリペプチド」は、単独で、あるいはキャリアと結合して、アジュバントと共に、あ

るいはアジュバントなしで、哺乳類動物中に細胞性および／あるいは液性の免疫応答を引き起こすポリペプチドを指す。

【0062】「ポリペプチド」は、アミノ酸のポリマーを指し、分子の長さを特定しない。従って、ペプチド、オリゴペプチド、およびタンパク質は、ポリペプチドの定義に含まれる。この用語はまた、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、等のポリペプチドの発現後の修飾を特定も除外もしない。定義に含まれるのは、例えば、一つあるいはそれ以上のアミノ酸のアナログを含んだポリペプチド(例えば、非天然のアミノ酸、等を含む)、結合の変化したポリペプチド、および、天然および非天然の両方の、他の当分野で公知の改変である。

【0063】本明細書で使用されるように、用語「形質転換」は、宿主細胞に外来のポリヌクレオチドを挿入することを指し、挿入に用いた方法には無関係であり、例えば、直接の取り込み、トランスダクション、f-接合、あるいはエレクトロポレーションである。外来のポリヌクレオチドは、例えば、プラスミドのように、組み込まれないベクターとして保持され得、あるいは宿主ゲノムに組み込まれ得る。

【0064】「形質転換された」宿主細胞は、形質転換された当の細胞、および元々は外来であったポリヌクレオチドを保持しているその子孫の両方を指す。

【0065】本明細書の用語「処置」は、予防および／あるいは治療を指す。

【0066】「個体」は、脊椎動物、特に哺乳類種のもを指し、そして、家畜、競技用動物、およびヒトを含む霊長類を含むがこれらに限定されない。

【0067】「センス鎖」は、それからのmRNA転写体に相同な二本鎖DNAの一方の鎖を指す。「アンチセンス鎖」は、「センス鎖」の配列に相補的な配列を含む。

【0068】「抗体含有身体成分」は、目的の抗体の原料である、個体の身体構成物を指す。抗体含有身体成分は当分野で公知であり、全血およびその構成成分、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、呼吸管、消化管、および尿生殖管の外部切片、涙、唾液、乳汁、白血球、およびミエローマ細胞が含まれるが、これらに限定されない。

【0069】「精製されたHCV」分離株は、ウイルスが通常付随している細胞構成物から、および感染した組織中に存在し得る他のタイプのウイルスから、単離されたHCV粒子の調製物を指す。ウイルスを単離する技術は当業者に公知であり、例えば、遠心分離およびアフィニティークロマトグラフィーが含まれる。

【0070】HCV「粒子」は、全ビリオン、およびビリオン形成の中間体の粒子である。HCV粒子は、一般に、HCV核酸に付随する一つあるいはそれ以上のHCVタンパク質を有する。

【0071】「プローブ」は、プローブの少なくとも一つの領域と標的領域との相補性により、標的ポリヌク



レオチド中の配列とハイブリッド構造を形成するポリヌクレオチドを指す。

【0072】「生物学的試料」は、個体から単離された組織あるいは液体の試料を指し、例えば、全血およびその構成成分、血漿、血清、髄液、リンパ液、皮膚、呼吸管、消化管、および尿生殖管の外部切片、涙、唾液、乳汁、血液細胞、腫瘍、器官、およびin vitroの細胞培養構成物の試料(細胞培養培地中で生育した細胞から得られる馴化培地、ウイルス感染細胞と推測される細胞、組換え細胞、および細胞構成物を含むが、これらに限定されない)もまた含まれるが、これらに限定されない。

【0073】本発明は、HCVの新たに発見された分離株、J1およびJ7、これらのヌクレオチド配列、タンパク配列、および得られるポリヌクレオチド、ポリペプチド、およびこれらに由来する抗体の単離および特徴付に関する。分離株J1およびJ7は、ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が新規であり、そしてこれらの配列は、日本および他のアジア諸国からのHCV単離株に特徴的であると考えられている。

【0074】HCV/J1およびHCV/J7に由来するヌクレオチド配列は、試料中のウイルスの存在を診断するための、および、このウイルスの天然変異株を単離するためのプローブとして有用である。さらにこれらのヌクレオチド配列は、J1およびJ7のゲノムの中にコードされたHCV抗原のポリペプチド配列を得ることも可能とし、そして、標準物質として、あるいは、診断テストおよび/あるいはワクチンの成分として、有用なポリペプチドの製造を可能とする。さらにこれらのポリペプチド配列に含まれるHCVのエピトープに対するポリクローナルおよびモノクローナルの両方の抗体は、診断テスト用に、治療剤として、抗ウイルス剤のスクリーニング用に、およびNANBHウイルスの単離用に、有用である。加えて、本明細書に開示された配列に由来するプローブを用いると、J1およびJ7のゲノムの他の部分の単離および配列決定が可能となり、従って、NANBHの、予防的および治療的の両方の、診断および/あるいは処置に有用な、別のプローブおよびポリペプチドが得られる。

【0075】HCV/J1およびHCV/J7のヌクレオチド配列が得られると、HCV感染によるNANBHの診断に有用な、そして、供血者および供与された血液および血液製剤の感染をスクリーニングするのに有用な、ポリヌクレオチドプローブおよびポリペプチドの構築が可能となる。例えば、この配列から8~10個のヌクレオチドあるいはもっと長いDNAオリゴマーを合成することが可能である。これは例えば、ウイルスを有すると予測される患者の血清中のHCV RNAの存在を検出するための、あるいは、ウイルスの存在に関して供与された血液をスクリーニングするためのハイブリダイゼーションプローブとして有用である。このHCV/J1およびHCV/J7配列はまた、NANBHの期間に生成された抗体の存在を診断する試薬として有用

な、HCV特異的ポリペプチドの設計および製造を可能とする。HCV/J1およびHCV/J7の配列に由来する精製されたポリペプチドに対する抗体はまた、感染した個体および血液中のウイルス抗原を検出するために使用し得る。

【0076】これらHCV/J1およびHCV/J7の配列に関する知識はさらに、HCVに対するワクチンとして使用し得、また抗体の産生にも使用し得るポリペプチドの設計および製造を可能とする。そして、それは病気に対する防御としておよび/あるいはHCV感染した個体の治療に使用し得る。さらに、開示されたHCV/J1およびHCV/J7の配列は、HCVゲノムのさらなる特徴付けを可能とする。これらの配列およびHCVゲノムに由来するポリヌクレオチドプローブは、別のウイルスcDNA配列をcDNAライブラリーからスクリーニングするために使用し得、次いでこれを別の重複配列を得るために使用し得る。例えば、欧州特許公開第318,216号を参照。

【0077】HCV/J1およびHCV/J7のポリヌクレオチド配列、それらに由来するポリペプチド、およびこれらのポリペプチドに対する抗体は、(単数あるいは複数の)BB-NANBH物質の単離および同定に有用である。例えば、HCV/J1配列に由来するポリペプチドに含まれるHCVのエピトープに対する抗体は、アフィニティークロマトグラフィーに基づくウイルスの単離法で使用し得る。あるいは、この抗体を、他の方法によって単離されたウイルス粒子の同定に使用し得る。次に、単離されたウイルス粒子内のウイルス抗原およびゲノム物質は、さらに特徴付けられ得る。

【0078】HCV/J1およびHCV/J7のゲノムのさらなる配列決定から、および、HCV/J1およびHCV/J7の抗原のさらなる特徴付けおよびゲノムの特徴付けから得られる情報により、別のプローブ、およびポリペプチド、および抗体の設計および合成が可能となる。この抗体は、HCVにより引き起こされるNANBHの予防および治療のための診断、および、感染血液および血液関連製剤のスクリーニングのために使用し得る。

【0079】HCV/J1およびHCV/J7のcDNA配列が得られると、いずれかの鎖にコードされたポリペプチドの抗原的に活性な領域をコードする発現ベクターの構築が可能となる。これらの抗原的に活性な領域は、コートあるいはエンベロープ抗原、あるいはコア抗原、あるいは、例えばポリヌクレオチド結合タンパク質、(単数あるいは複数の)ポリヌクレオチドポリメラーゼ、およびウイルス粒子の複製および/あるいは組立に必要とされる他のウイルスタンパク質を含む、非構造タンパク質の抗原に由来し得る。所望のポリペプチドをコードする断片は、通常の制限酵素消化あるいは合成的方法を用いてcDNAクローンから誘導し、そして、例えば $\beta$ -ガラクトシダーゼあるいはスーパーオキシドジムスターゼ(SOD)のような融合配列の部分を含み得る、ベクターにつなぎ入れる。SODの融合配列を含むポリペプチドの製造に有用な

方法およびベクターは、欧州特許公開第196,056号に記載されている。SODおよびHCVポリペプチドの融合ポリペプチドをコードするベクターは、欧州特許公開第318,216号に記載されている。いずれかのセンス鎖の、オープンリーディングフレームを含んだHCV cDNAのいかなる所望の部分でも、成熟タンパク質あるいは融合タンパク質のような組換えポリペプチドとして得ることができる。あるいは、cDNA中にコードされたポリペプチドは、化学合成により提供し得る。

【0080】融合あるいは成熟の形態を問わず、所望のポリペプチドをコードするDNAは、任意の都合のよい宿主に適した発現ベクターにつなぎ入れ得る。組換えポリペプチドの形成には、現在、真核細胞および原核細胞宿主系の両方が使用されており、そしてより一般的な制御システムおよび宿主細胞のいくつかに関する要約を以下に記した。このような宿主細胞中で産生されたポリペプチドは、次に溶解された細胞から、あるいは培養液から単離され、そして目的の使用法が必要とする状態まで精製される。精製は、例えば分別抽出、塩分画、イオン交換樹脂でのクロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、遠心分離等の分野で公知の方法で行い得る。タンパク質の精製のための種々の方法に関しては、例えば、Methods in Enzymologyを参照。

【0081】このような組換えあるいは合成のHCVポリペプチドは、診断試薬として、あるいはワクチン中に処方し得る中和抗体を生成させる物質として、使用し得る。これらのポリペプチドに対する抗体はまた、診断試薬、あるいは受動免疫療法剤として使用し得る。加えて、これらのポリペプチドに対する抗体は、HCV粒子の単離および同定に有用である。

【0082】HCV抗原はまた、HCVのビリオンから単離し得る。ビリオンは、組織培養中のHCV感染細胞中、あるいは感染した宿主中で生育し得る。

【0083】本発明のポリペプチドは、実質的に完全なウイルス領域を含むが、多くの適用で必要とされるのはウイルスの抗原領域あるいは免疫原性領域を含むポリペプチドである。ポリペプチドの抗原的な領域は一般に相対的に小さく、典型的には、長さが8~10個のアミノ酸、あるいはそれ以下である。僅か5個のアミノ酸の断片でも、抗原的領域を特徴付け得る。このような断片は、HCV/J1あるいはHCV/J7(HCV/J8;)のエピトープ領域に対応し得る。従ってHCV/J1およびHCV/J7のcDNAを元として使用して、HCV/J1およびHCV/J7ポリペプチドの短い断片をコードするDNAを、融合タンパク質、あるいは分離したポリペプチドとして、組換え技術で発現させ得る。加えて、短いアミノ酸配列は、化学合成により簡便に得られ得る。

【0084】合成されたポリペプチドが、正しいエピトープを提供するべく正しく配置されてはいるが免疫原としては小さ過ぎる場合には、このポリペプチドを適切な

キャリアーと結合し得る。このような結合を得るための多くの方法は当分野で公知であり、Pierce Company, Rockford, Illinoisから市販されている、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジル-チオ)プロピオネート(SPDP)およびスクシンイミジル-4-(N-マレイミド-メチル)シクロヘキササン-1-カルボキシレート(SMCC)を用いたジスルフィド結合の形成が含まれる(ペプチドがスルフヒドリル基を欠く場合、システイン残基の付加によりスルフヒドリル基が提供される)。これらの試薬は、自身と一つのタンパク質上のペプチドシステイン残基との間にジスルフィド結合を生成し、そして、リジンのε-アミノ基、あるいは他方のタンパク質の他のフリーのアミノ基を介して、アミド結合を生成する。種々のこのようなジスルフィド/アミノ形成試薬は公知である。例えば、Immun. Rev. (1982) 62:185を参照。他の二価のカップリング試薬は、ジスルフィド結合でなくチオエーテルを形成する。これらのチオエーテル形成試薬の多くは市販されており、そして、6-マレイミドカプロン酸、2-ブロモ酢酸、2-ヨード酢酸、4-(N-マレイミド-メチル)シクロヘキササン-1-カルボン酸等の反応性エステルが含まれる。カルボキシル基は、スクシンイミド、あるいは1-ヒドロキシル-2-ニトロ-4-スルホン酸ナトリウム塩と組み合わせることにより活性化し得る。抗原を結合する他の方法は、欧州特許公開第259,149号(本明細書で参考文献として援用する)に記載されたロタウイルス/「結合ペプチド」システムを採用している。以上のリストは完全なものではなく、名を挙げた化合物を改変したものも使用し得るのは明白である。

【0085】それ自身は宿主に有害な抗体の産生を誘起しない、任意のキャリアーが使用し得る。典型的な適切なキャリアーは大きく、ゆっくり代謝される巨大分子である。その例には、タンパク質；ラテックスに加工されたセファロース、アガロースセルロース、セルロースビーズ等のような多糖類；ポリグルタミン酸、ポリリジン等のような、ポリマー性のアミノ酸；アミノ酸コポリマー；および不活性なウイルス粒子がある。特に有用なタンパク質基質は、血清アルブミン、キーホールリンベットヘモシアニン、イムノグロブリン分子、サイログロブリン、オバアルブミン、破傷風トキソイド、および当業者に良く知られた他のタンパク質である。

【0086】完全長のウイルスタンパク質に加えて、少なくとも一つのウイルスエピトープをコードする、先端切断したHCVアミノ酸配列を含むポリペプチドも、免疫学的試薬として有用である。例えば、このような先端切断した配列を含むポリペプチドは、イムノアッセイの試薬として使用し得る。これらのポリペプチドはまた、抗血清の製造あるいはワクチン用の組成物中の、抗原サブユニットの候補でもある。これらの先端切断した配列は、天然のウイルスタンパク質に種々の公知の処理を行うことで製造し得るが、一般に、HCV配列を含む、合成

あるいは組換えポリペプチドを作成するのが好ましい。これらの先端切断したHCV配列を含むポリペプチドは、HCV配列からのみ(隣接したあるいは隣接しない、一つのあるいはそれ以上のエピトープ)作成し得、あるいはHCV配列および異種の配列を融合タンパク質の形で作成し得る。有用な異種配列には、組換え宿主からの分泌を促す配列、(単数あるいは複数の)HCVエピトープの免疫学的反応性を増強する配列、あるいはポリペプチドがイムノアッセイ支持体あるいはワクチンキャリアへカップリングするのを促進する配列が含まれる。例えば、欧州特許公開第116,201号；米国特許第4,722,840号；欧州特許公開第259,149号；米国特許第4,629,783号(本明細書では開示内容を参考文献として援用する)を参照。

【0087】先端切断されたHCVを含むポリペプチドの大きさは広く変化し得、最小の大きさはHCVエピトープを提供するのに十分な大きさの配列であるが最大の大きさは特に重要ではない。幾つかの例では、最大の大きさは一般に、所望するHCVのエピトープ、および、もし存在するならば、異種の配列の(単数あるいは複数の)機能を提供するために必要とされるよりも実質的に大きくはない。典型的には、先端切断されたHCVアミノ酸配列は、約5個から100個のアミノ酸の範囲の長さである。しかし、さらに典型的には、HCV配列は最大約50個のアミノ酸の長さで、好適には最大約30個のアミノ酸である。一般に、少なくとも約10、12あるいは15個のアミノ酸、最大約20個あるいは25個のアミノ酸までのHCV配列を選択するのが望ましい。

【0088】エピトープを含む先端切断したHCVアミノ酸配列は、多くの方法で同定し得る。例えば、全長のウイルスタンパク質配列は、全体で全長のタンパク質配列を包含する一連の短いペプチドを調製することによりスクリーニングし得る。例えば、100-merのポリペプチドから始めて、目的の反応性を示す(単数あるいは複数の)エピトープの存在に関して各ポリペプチドをテストし、そして次に、確認された100-merからより小さい、重複する断片をテストして目的のエピトープの位置を決めることはルーチンである。イムノアッセイでこのようなペプチドをスクリーニングすることは、当分野の技術範囲内である。タンパク質配列のコンピューター分析を行って、潜在的なエピトープを同定し、そして次に同定された領域を含むオリゴヌクレオチドをスクリーニングのために調製することも公知である。抗原性に関するこのようなコンピューター分析が実際に存在するエピトープを常に同定するわけではなく、タンパク質のある領域をエピトープを含んだ領域として誤って同定することもあり得ることは、当業者も認めている。

【0089】HCVの推定されるポリタンパク質とフラビウイルスとの関係の観察によって、HCVの「非構造」(NS)タンパク質の推定ドメインの予測が可能となった。推定されるフラビウイルスの前駆体ポリタンパク質中のNS

タンパク質の個々の位置は、かなり良く知られている。さらに、これらはまた、ポリタンパク質の観察された疎水性プロファイルの総体的変動とも一致する。フラビウイルスのNS5は、ビリオンのポリメラーゼをコードし、そしてNS1は、動物に対して有効なワクチンであることが示された補体結合抗原に相当することが確認された。最近、フラビウイルスのプロテアーゼ機能は、NS3中に在ることが示された。HCVとフラビウイルスとの観察された類似性のため、HCVポリタンパク質中の対応するタンパク質ドメインおよび機能の概ねの位置に関する推論が可能である。図28は、HCVポリタンパク質の推定ドメインの概要を示している。例えば、細菌、酵母、昆虫、および脊椎動物細胞を含む種々の組換え宿主細胞中のこれらのドメインを含んだポリペプチドの発現は、診断、検出、およびワクチンに使用し得る重要な免疫学的試薬を提供する。

【0090】本明細書に記載されたHCV分離株およびフラビウイルスの推定されたポリタンパク質の非構造タンパク質領域は、全般的に類似であるように見えるが、N-末端に向かう推定構造領域の間では類似性が低い。この領域では、配列の相違が大きく、そして加えて、二つの領域の疎水性プロファイルはさらに類似性が低い。この「相違」は、HCV中の推定NS1ドメインのN-末端領域に始まり、推定N-末端まで延びている。しかしながら、推定されるヌクレオカプシド(N-末端塩基性ドメイン)およびE(一般的に疎水性)ドメインのHCVポリタンパク質中でのおおまかな位置を予測することは、可能である。これらの予測から、有用な免疫学的試薬に対応し得るHCVポリタンパク質の大まかな領域を同定することは可能で有り得る。例えば、フラビウイルスのEおよびNS1タンパク質は、防御的ワクチンとして有効性を有することが知られている。このような領域、および、例えば推定NS3、C、およびNS5等の中のHCV1で抗原性であることを示された幾つかの領域もまた、診断試薬を提供するに違いない。

【0091】HCV配列の免疫原性はまた、例えば、B型肝炎表面抗原あるいはロタウイルスVP6抗原のような粒子形成タンパク質と、融合あるいは組み合わされた配列を調製することで増強され得る。HCVエピトープが粒子形成タンパク質をコードする配列に直接結合された構築物は、HCVエピトープに関して抗原性であるハイブリッドを産生する。加えて、調製されたベクターの全てはHBVに特異的なエピトープを含み、例えば、プレ-Sペプチドのような様々な程度の免疫原性を有する。従って、HCV配列を含む粒子形成タンパク質から構築された粒子は、HCVおよび粒子形成タンパク質に関して、免疫原性である。例えば、米国特許第4,722,840号；欧州特許公開第175,261号；欧州特許公開第259,149号；Michelleら(1984) Int.Symposium on Viral Hepatitis;を参照。

【0092】HCV/J1あるいはHCV/J1に由来する一つある



いはそれ以上の免疫原性ポリペプチドから、ワクチンが調製し得る。HCVとフラビウイルスとの間の観察された相同性は、ワクチンとして最も効果的と思われるポリペプチド、および、これらがコードされているゲノムの領域に関する情報を提供する。フラビウイルスのゲノムの一般的構造は、THE VIRUSES: THE TOGAVIRIDAE AND FLAVIVIRIDAE (シリーズ編集Fraenkel-ConratおよびWagner、巻編集SchlesingerおよびSchlesinger, Plenum Press)中でRiceら(1986)により、論議されている。フラビウイルスゲノムRNAは、唯一のウイルス特異的mRNA種であると考えられており、これは3つの、即ちC、MおよびEのウイルス構造タンパク質、および2つの大きな非構造タンパク質NV4およびNV5、および、より小さい非構造タンパク質の複合セットに翻訳される。フラビウイルスの主要な中和エпитープは、E(エンベロープ)タンパク質に存在することが知られている。THE VIRUSES: THE TOGAVIRIDAE AND FLAVIVIRIDAE (シリーズ編集Fraenkel-ConratおよびWagner、巻編集SchlesingerおよびSchlesinger, Plenum Press)中のRoehrig (1986)。対応するHCVのE遺伝子およびポリペプチドをコードする領域は、フラビウイルスに対する相同性に基づき予測し得る。従ってワクチンは、HCVのEのエピトープを含む組換えポリペプチドを含み得る。これらのポリペプチドは、細菌、酵母、あるいは哺乳類細胞中で発現され得、あるいは、ウイルス調製物から単離され得る。他の構造タンパク質もまた、防御用の抗HCV抗体を誘起するエピトープを含み得ることもまた予測される。従って、単独で、あるいは組合せでE、C、およびMのエピトープを含むポリペプチドもまた、HCVワクチンに使用し得る。

【0093】上記に加えて、NS1(非構造タンパク質1)での免疫は、黄熱病に対する防御をもたらすことが示された。Schlesingerら(1986) J. Virol. 60:1153。この免疫は中和抗体の産生を引き起こさないが、これは事実である。従って、特にこのタンパク質がフラビウイルス間で高度に保持されていることから、HCVのNS1もまたHCV感染に対する防御となり得ると考えられる。さらにこのことは、非構造タンパク質が、中和抗体の産生は引き起こさないにも拘らず、ウイルス病原性に対する防御を与え得ることも示す。

【0094】上記の観点から、HCVに対する多価のワクチンは、一つあるいはそれ以上の構造タンパク質からの一つあるいはそれ以上のエピトープ、および/あるいは一つあるいはそれ以上の非構造タンパク質からの一つあるいはそれ以上のエピトープを含み得る。これらのワクチンは、例えば、組換えHCVポリペプチドおよび/あるいはビリオンから単離されたポリペプチドを含み得る。特に、一つあるいはそれ以上の以下のHCVタンパク質：E、NS1、C、NS2、NS3、NS4、およびNS5、あるいは、それらに由来するサブユニット抗原を含むワクチンが期待されている。特に好適なのは、Eおよび/あるいはNS1、

あるいはそのサブユニットを含むワクチンである。加えて、不活性化したHCVをワクチンに使用することも可能であり得る；不活性化は、ウイルス溶解液の調製により、あるいはフラビウイルスの不活性化を引き起こす、当分野で公知の手段、例えば、有機溶媒あるいは界面活性剤による処理、あるいはホルマリン処理によって行い得る。さらにまた、ワクチンは、弱毒化されたHCV株から、あるいは当分野で公知の[Brownら、Nature 319:549-550 (1986)]、ワクシニアベクターのようなハイブリッドウイルスから、調製し得る。

【0095】有効成分として(単数あるいは複数の)免疫原性ポリペプチドを含んだワクチンの調製物は、当業者に公知である。このようなワクチンは典型的には、液体溶液あるいは懸濁液のいずれかとして注射可能に調製される；また注射に先立ち溶液中で、溶液として、あるいは懸濁液として調製するのに適した固体の形態でも調製し得る。この調製物は乳化し得、あるいはリボソーム中にタンパク質をカプセル化し得る。免疫原性の有効成分はしばしば、薬学的に許容可能で有効成分と適合する賦形剤と混合される。適切な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセリン、エタノール等、およびそれらの組合せである。加えて、所望するならばワクチンは、湿潤剤あるいは乳化剤、pH緩衝剤、および/あるいはワクチンの有効性を増強するアジュバントのような少量の補助物質を含み得る。有効で有り得るアジュバントの例には、以下のものが含まれるが、これらに制限はされない：水酸化アルミニウム、N-アセチルムラミル-L-スレオニル-D-イソグルタミン(thr-WDP)、N-アセチル-nor-ムラニル-L-アラニル-D-イソグルタミン(CGP 11637、nor-MDPと呼ぶ)、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミニル-L-アラニン-2-(1'-2'-ジバルミトイル-sn-グリセロール-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミン(CGP 19835A、MTP-PEと呼ぶ)、および細菌から抽出したモノホスホリル脂質A、トレハロースジミコレートおよび細胞壁骨格の3つの成分(MPL+TDM+CWS)を2%のスクアレン/Tween 80乳化液中に含むRIBI。アジュバントの有効性は、このポリペプチドを含み、さらに種々のアジュバントを含むワクチンの投与により得られる、HCVの抗原性配列を含んだ免疫原性ポリペプチドに対する抗体の量を測定することで決定し得る。

【0096】このワクチンは、注射により、通常は皮下あるいは筋肉内のいづれかに非経口的に従来のように投与される。別の様式の投与に適した別の処方には、座剤および、ときとして経口処方が含まれる。座剤には、例えば、ポリアルキレングリコールあるいはトリグリセリドのような伝統的な結合剤およびキャリアーが含まれ得る；このような座剤は、有効成分を0.5%~10%、好ましくは1%~2%の範囲で含んだ混合物から形成される。経口処方には、例えば薬剤等級の、マンニトール、



ラクトース、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウム、等のような通常使用される賦形剤が含まれる。これらの組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、丸剤、カプセル、徐放性処方あるいは粉末の形態を取り、そして10%~95%の、好ましくは25%~70%の有効成分を含む。

【0097】タンパク質は、中性あるいは塩の形態でワクチンに処方され得る。薬学的に許容可能な塩には、酸付加塩(ペプチドのフリーのアミノ基と形成した)、および例えば、塩酸あるいはリン酸のような無機酸、あるいは酢酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸等のような有機酸と形成した塩が含まれる。フリーのカルボキシル基と形成した塩もまた、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、あるいは水酸化第二鉄のような無機塩基、およびイソプロピルアミン、トリメチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカイン、等のような有機塩基から誘導し得る。

【0098】ワクチンは、投与処方が適合する様式で、そして、予防的におよび/あるいは治療的に有効な量で、投与される。投与される量は一般に、投与当り抗原が5 $\mu$ gから250 $\mu$ gの範囲であり、処置される対象、対象の抗体を合成する免疫系の能力、および所望する防御の程度に依存する。投与に必要なとされる有効成分の正確な量は、実施者の判断に依存し得、そして個体毎に固有となり得る。

【0099】ワクチンは、単回投与のスケジュールで、あるいは好ましくは複数投与スケジュールで与え得る。複数投与スケジュールでは、予防接種の第一過程が1~10回の別々の投与であり得、その後、免疫応答を維持あるいは補強するために、必要な投与をさらに引き続き、期間毎に行い、例えば、1~4ヶ月に第二の投与を行い、そして必要ならば、数ヶ月後に次の(単数あるいは複数の)投与を行う。投与法はまた、少なくとも部分的には、個体の必要に応じて決定され、実施者の判断による。

【0100】加えて、(単数あるいは複数の)免疫原性のHCV抗原を含んだワクチンは、例えば、免疫グロブリンのような他の免疫調節物質と共に投与し得る。

【0101】上述のようにして調製された免疫原性のポリペプチドは、ポリクローナルおよびモノクローナルの両方の抗体の製造に使用される。ポリクローナル抗体が所望ならば、選択した哺乳類(例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ウマ、その他)をHCVの(単数あるいは複数の)エпитープを有する免疫原性のポリペプチドで免疫する。免疫した動物からの血清を、回収し、そして公知の方法に従って処理する。HCVエпитープに対するポリクローナル抗体を含んでいる血清が、他の抗原に対する抗体を含んでいる場合、ポリクローナル抗体はイムノアフィニティークロマトグラフィーにより精製され得る。ポ

リクローナルの抗血清の製造および処理の技術は当分野で公知であり、例えば、MayerおよびWalker編集(1987) IMMUNOCHEMICAL METHODS IN CELL AND MOLECULAR BIOLOGY (Academic Press, London)を参照。

【0102】HCVエпитープに対するモノクローナル抗体もまた、当業者は容易に製造し得る。ハイブリドーマによるモノクローナル抗体作成の一般的方法は良く知られている。永久に継代可能な抗体産生細胞株は、細胞融合、および、ガン遺伝子DNAでBリンパ球を直接形質転換したり、あるいはエプスタインバーウイルスによるトランスフェクションのような他の方法によっても創製し得る。例えば、M.Schreierら(1980) HYBRIDOMA TECHNIQUES; Hammerlingら(1981), MONOCLONAL ANTIBODIES AND T-CELL HYBRIDOMAS; Kennettら(1980) MONOCLONAL ANTIBODIES; を参照。また、米国特許第4,341,761号; 第4,399,121号; 第4,427,783号; 第4,444,887号; 第4,466,917号; 第4,472,500号; 第4,491,632号; および、第4,493,890号も参照。HCVエпитープに対して製造された一連のモノクローナル抗体は、種々の性質、即ち、アイソタイプ、エпитープ親和性、その他に関してスクリーニングし得る。

【0103】HCVエпитープに対する、ポリクローナルおよびモノクローナルの両方の抗体は、特に診断に有用であり、中和抗体は、受動的免疫療法に有用である。特にモノクローナル抗体は、抗イディオタイプ抗体の作成に有用である。

【0104】抗イディオタイプ抗体は、それに対する防御が望まれている感染物質の抗原の「内部イメージ」を有する免疫グロブリンである。抗イディオタイプ抗体を作成する技術は当分野で公知である。例えば、Grzych (1985), Nature 316:74; MacNamaraら(1984), Science 226:1325; Uytdehaagら(1985), J.Immunol. 134:1225、を参照。これらの抗イディオタイプ抗体はまた、NANBHの治療および/あるいは診断に、およびHCV抗原の免疫原性領域の解明に、有用で有り得る。

【0105】HCV/J1あるいはHCV/J7のポリヌクレオチド配列を基として用いて、切り出しあるいは合成的に、約8ヌクレオチドあるいはそれ以上のオリゴマーを調製し得る。このヌクレオチドは、HCVゲノムにハイブリダイズし、そして、(単数あるいは複数の)ウイルス物質の同定に、(単数あるいは複数の)ウイルスゲノムのさらなる特徴付けに、および病気の個体中の(単数あるいは複数の)ウイルスの検出に、有用である。HCVポリヌクレオチド(天然あるいは誘導体)用のプローブは、ハイブリダイゼーションにより特有のウイルス配列の検出が可能となる長さである。6~8個のヌクレオチドは、実際に使用し得る長さであり得るが、約10~12個のヌクレオチドの配列が好ましく、そして約20個のヌクレオチドが最適のようである。これらのプローブは、自動オリゴヌクレオチド合成法を含む、日常的方法を用いて調製し得る。有

用なプローブには、例えば以下に記載する、本明細書に開示されたクローン、およびcDNAライブラリーをプローブするのに有用な種々のオリゴマーがある。HCVゲノムの任意の特有な部分に相補的であれば充分である。プローブとして使用するためには、断片の長さが増せば必要となるが、完全な相補性が望ましい。

【0106】このようなプローブを診断試薬として使用する場合、所望するならば血液あるいは血清のような分析される生物学的試料を処理して、その中に含まれる核酸を抽出し得る。試料から得られた核酸は、ゲル電気泳動、あるいは他のサイズ選別技術にかけ得る；あるいは、サイズ選別せずに核酸試料をドットブロットし得る。このプローブを次に標識する。適切な標識、およびプローブを標識する方法は当分野で公知であり、例えば、ニックトランスレーションあるいはカイネーションによる放射活性標識の組み込み、ビオチン、蛍光プローブ、および化学発光プローブが含まれる。試料から抽出された核酸を次に、適切なストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下で標識プローブで処理する。偽陽性を妨げるために、通常は高いストリンジェンシーの条件が好ましい。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、温度、イオン強度、時間の長さ、およびホルムアミドの濃度を包含する、ハイブリダイゼーション中および洗浄工程中の多くの因子によって、決められる。例えば、Maniatis, T. (1982) MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.)に、これらの因子の概略が示されている。

【0107】一般的に、HCVゲノム配列は、感染した個体の血清中に相対的に低い濃度で、即ち、約 $10^2 \sim 10^3$  チンパンジー感染量(chimp infectious doses) (CID)/mlの濃度で、存在していると考えられている。このレベルは、ハイブリダイゼーションアッセイに増幅技術が用いられることを必要とし得る。このような技術は当分野で公知である。例えば、Enzo Biochemical Corporationの「Bio-Bridge」システムは、修飾されていない3'-ポリ-dT-テイルをDNAプローブに付け加えるために、ターミナルデオキシヌクレオチドトランスフェラーゼを使用する。このポリdT-テイルを付けたプローブを、標的ヌクレオチド配列とハイブリダイゼーションし、そして次に、ビオチン修飾したポリ-Aとハイブリダイゼーションする。PCT特許出願No. 84/03520、および欧州特許公開第124,221号にはDNAハイブリダイゼーションアッセイが記載され、その中で：(1)被分析物を、酵素標識したオリゴヌクレオチドに相補的な一本鎖DNAプローブとアニールさせ、そして、(2)得られたテイルの付いた二重鎖を酵素標識したオリゴヌクレオチドとハイブリダイゼーションしている。欧州特許公開第204,510号には、被分析物DNAを、ポリ-dTテイルのようなテイルを有するプローブ、および、ポリ-A配列のようなプローブのテイルとハ

イブリダイゼーションする配列を有し、そして複数の標識された鎖と結合し得る、アンプリファイアー鎖と接触させる、DNAハイブリダイゼーションアッセイを記載している。

【0108】特に望ましい技術は、まず、血清中の標的HCV配列を約10,000-倍に、即ち、約 $10^6$  配列/mlに増幅する工程を含む。例えば、Saikiら(1986) Nature 324:163、Mullisらの米国特許第4,683,195号、およびMullisらの米国特許第4,683,202号に記載されたポリメラーゼチェーンリアクション(PCR)法により行える。増幅された(単数あるいは複数の)配列は次に、係属出願の、欧州特許公開第317-077号、および日本特許出願番号第63-260347号(これらは本明細書の譲受人に譲渡され、本明細書ではこれらを参考文献として援用する)に記載されたハイブリダイゼーションアッセイを用いて検出する。 $10^6$ /mlのレベルの配列を検出する必要のあるこれらのハイブリダイゼーションアッセイは、一本鎖の被分析物核酸に結合し、さらに複数の標識一本鎖オリゴヌクレオチドとも結合する、核酸マルチマーを利用している。標識ポリヌクレオチドプローブに使用し得る適切な液相サンドイッチアッセイ、およびプローブを調製するための方法は、欧州特許公開第225,807号(本明細書では参考文献として援用する)に記載されている。

【0109】これらのプローブは、診断キット中に包括し得る。診断キットは、プローブDNAを含み、プローブは標識されていても良く；あるいは、DNAプローブは非標識で、標識用の成分をキット中の別の容器中に含んでも良い。キットはまた、例えば、スタンダード用物質、洗浄バッファー、およびテストを行うための指示書のような、特定のハイブリダイゼーションプロトコルに必要とされる、他の適切に包装された試薬および物を含み得る。

【0110】HCV抗体を含む血清およびHCV/J1およびHCV/J7のポリペプチド中のHCV特異的エピトープに対する抗体と免疫学的に反応する、HCV/J1およびHCV/J7のポリペプチドの両者は、生物学的試料中のHCV抗体の存在を、あるいは、ウイルスおよび/あるいはウイルス抗原の存在を検出するイムノアッセイに有用である。イムノアッセイの設計は非常に多様で、これらの多様性は当分野で公知である。抗HCV抗体用のイムノアッセイは、一つのウイルスエピトープ、あるいは数個のウイルスエピトープを利用し得る。複数のエピトープを用いる場合、このエピトープは、同じあるいは異なるウイルスポリペプチドに由来し得、そして、エピトープは、別々の、組換えポリペプチドあるいは天然のポリペプチド中に、あるいは同じ組換えポリペプチド中に一緒に、存在しても良い。

【0111】ウイルス抗原用のイムノアッセイは、例えば、ウイルスエピトープに対するモノクローナル抗体、一つのウイルスポリペプチドのエピトープに対するモノ

クローナル抗体の組合せ、異なるウイルスポリペプチドの複数のエпитープに対するモノクローナル抗体の組合せ、同じウイルス抗原に対するポリクローナル抗体、異なるウイルス抗原に対するポリクローナル抗体、あるいは、モノクローナルおよびポリクローナルの抗体の組合せが使用し得る。

【0112】イムノアッセイのプロトコールは、例えば、競合法、あるいは直接反応、あるいはサンドイッチタイプのアッセイに基づき得る。プロトコールはまた、例えば固相支持体を使用しても良く、あるいは免疫沈降法であっても良い。殆どのアッセイは、標識した抗体あるいはポリペプチドの使用を含む。標識は、例えば、蛍光、化学発光、放射活性、あるいは色素分子であり得る。プローブからの信号を増幅するアッセイもまた公知である。その例は、ELISAアッセイのような、ビオチンおよびアビジンを利用するアッセイ、および、酵素標識および酵素を介するイムノアッセイである。

【0113】典型的には、抗HCV抗体用のイムノアッセイは、生物学的試料のようなテスト試料を選択および調製し、そして次に、それを抗原性(即ち、エпитープを含有する)HCVポリペプチドと共に、抗原抗体複合体が形成される条件下でインキュベートすることを含む。このような条件は当分野では公知である。不均一系では、インキュベーション後にポリペプチドから試料を分離するために、ポリペプチドは固相支持体に結合される。使用し得る固相支持体の例には、メンブレンあるいはマイクロタイターウェルの形態のニトロセルロース、シートあるいはマイクロタイターウェルの形態のポリ塩化ビニル、ビーズあるいはマイクロタイターウェルの形態のポリスチレンラテックス、Immobilon™として知られているポリビニリジンフルオライド、ジアゾ化紙、ナイロンメンブレン、活性化ビーズ、およびプロテインAビーズである。最も好適なのは、DynatechのImmobilon™ 1マイクロタイタープレートあるいは0.25-インチのポリスチレンビーズであり、これはPrecision Plastic Ballでスペック(Spec)仕上げされ、不均一系で使用されている。固相支持体は、テスト試料から分離された後に一般に典型的に洗浄される。均一系では、当分野で公知のように、テスト試料は抗原と共に、溶液中で、形成された如何なる抗原抗体複合体をも沈降させる条件下でインキュベートする。沈降した複合体を次に、例えば、遠心分離により、テスト試料から分離する。抗HCV抗体を含む形成された複合体は、次に多くの技術のいずれかにより検出される。系によってはこの複合体は、標識した抗異種Igにより、あるいは、競合系が用いられた場合には、結合した標識競合抗体量を測定することにより、検出し得る。

【0114】HCVポリペプチドが被分析物であるイムノアッセイでは、典型的には生物学的試料であるテスト試料は、抗HCV抗体と共に、抗原抗体複合体の形成が可能

な条件下で同様にインキュベートされる。抗体が固相支持体に結合され、テスト試料と共にインキュベートされ；洗浄され；被分析物と第二の標識抗体とを共にインキュベートされ；そして、支持体を再び洗浄する、「サンドイッチ」アッセイのような種々の系を採用し得る。被分析物は第二抗体が支持体に結合したかどうかを調べることで検出される。不均一系あるいは均一系のいずれでも有り得る競合系では、テスト試料は通常、抗体および標識された競合する抗原と共に、順番にあるいは同時に、インキュベートされる。これらおよび他の系は、当分野で良く知られている。

【0115】HCVのフラビウイルスモデルは、ビリオンの構造タンパク質の診断用エпитープの存在しそうな位置に関する予測を可能とする。C、プレ-M、M、およびEドメインは全て、ウイルス抗原の検出、および特に診断に役立つ可能性の高いエпитープを含んでいると考えられる。同様に、非構造タンパク質のドメインは、重要な診断用エпитープ(例えば、推定ポリメラーゼをコードするNS5；および、推定補体結合抗原をコードするNS1)を含むと考えられる。これらの特異的なドメインのエピトープを含む、組換えポリペプチドあるいはウイルスポリペプチドは、感染性血液の供与者および感染患者中のウイルス抗体の検出に有用であり得る。加えて、Eおよび/あるいはMタンパク質に対する抗体は、HCVにより引き起こされたNANBHの患者、および感染性血液の供与者の、ウイルス抗原検出用のイムノアッセイに使用し得る。さらに、これらの抗体は、急性期の供血者および患者からの検出に、非常に有用であり得る。

【0116】推定ポリタンパク質の抗原性領域は、細菌でのポリタンパク質の部分にコードするHCVのcDNAの発現産物の抗原性をスクリーニングすることにより、位置付けおよび同定し得る。HCVの他の抗原性領域は、酵母系、および、昆虫および脊椎動物由来の細胞系を含む、他の発現系でHCVのcDNAの部分が発現させることにより検出し得る。加えて、抗原性指数および疎水性/親水性プロフィールに関する研究により、領域の抗原性の見込みに関する情報が得られる。有効な検出系は、一連のエピトープの使用を含み得る。この一連のエピトープは、一つあるいは複数のポリペプチドに構築し得る。

【0117】免疫診断に適し、そして適切な標識試薬を含んだ適切なキットは、適切な容器中のHCVエピトープを含んだ本発明のポリペプチドあるいはHCVエピトープに対する抗体、そしてアッセイの実施に必要な他の試薬および物質(例えば、洗浄バッファー、標識抗ヒトIgのような検出手段、標識抗HCV、あるいは標識HCV抗原)、および適当なアッセイ指示書のセットを含む、適切な物質をパッケージに入れることで構築される。

【0118】本明細書に記載したHCV/J1およびHCV/J7のヌクレオチド配列情報は、HCVゲノムの配列に関するさらなる情報を得るために、そしてJ1あるいはJ7に関連し



た別のHCV分離株の同定および単離にも、使用し得る。そしてこの情報は、別のポリヌクレオチドアプローブ、HCVゲノムから誘導したポリペプチド、およびHCVにより引き起こされたNANBHの診断およびあるいは処置に有用であろうHCVエヒトープに対する抗体を導き出す。

【0119】本明細書に記載したHCV/J1およびHCV/J7のヌクレオチド配列情報は、それからJ1およびJ7配列が由来する、HCVゲノムの未だ定義されていない領域に由来する別の配列を単離するためのアプローブの設計に有用である。例えば、実施例に開示されたHCVのcDNA配列の5'末端あるいは3'末端に近い領域に由来する、約8個のあるいはそれ以上の、そして好ましくは20個のあるいはそれ以上のヌクレオチドの配列を含んだ標識アプローブは、HCVのcDNAライブラリーから重複するcDNA配列を単離するために使用し得る。上記のクローン中のcDNAと重複するが、上記のクローン中のcDNAが由来しないゲノムの領域から由来する配列をも含む、これらの配列は次に、以下に記載するcDNAと必ずしも重複しない他の重複断片を単離するためのアプローブの合成に使用し得る。cDNAライブラリーを構築する方法は当分野で公知である。例えば、欧州特許公開第318,216号を参照。HCV1抗原に対する抗体が証明されてNANBHを有すると診断された、日本および他のアジアの患者からライブラリーを調製するのが特に好ましい；これらの人々は、HCV/J1、HCV/J7あるいは関連した分離株の保持者の最も有力な候補であると考えられている。

【0120】HCV粒子は、NANBHの固体の血清から、あるいは細胞培養物から、当分野で公知の任意の方法で単離し得る。この方法には例えば、沈降あるいは排除法のようなサイズ分別に基づく技術、あるいは密度勾配中での超遠心のような密度に基づく技術、あるいはポリエチレングリコールのような物質と共に沈澱させる方法、あるいはアニオン性あるいはカチオン性の交換物質、および疎水性により結合する物質のような種々の物質によるクロマトグラフィーが含まれる。

【0121】HCV粒子あるいは抗原を単離するための好ましい方法は、イムノアフィニティーによる方法である。イムノアフィニティーの技術は当分野で公知であり、固相支持体に抗体を固定し、それらの免疫選択性を保持しておく技術が含まれる。これらの技術は、抗体が支持体に吸着されるもの(例えば、KurstakのENZYME IMMUNODIAGNOSIS, p.31-37を参照)、および抗体を支持体に共有結合するものであり得る。一般に、この技術は上述の抗原を固相支持体に共有結合するために使用したものと類似である。しかし、抗体の抗原結合部位が接近可能に保たれるようスペーサーグループが二価のカップリング試薬中に含まれ得る。抗体はモノクローナル、あるいはポリクローナルで良く、イムノアッセイに使用する前に抗体を精製しておくことが望ましい。

【0122】ウイルスからのゲノムの抽出、cDNAライ

ブラリーの調製およびアローピング、クローンの配列決定、発現ベクターの構築、細胞の形質転換、ラジオイムノアッセイあるいはELISAアッセイのような免疫学的アッセイの実施、培養による細胞の増殖、等々に使用される一般的技術は当分野で公知であり、これらの技術を記載したラボラトリーマニュアルは入手できるが、一般的指針として、これらの方法に関する現在得られる情報源、および実施する際に有用な物質を以下に記載する。

【0123】指定の宿主と適合する適切な制御配列が使用できるなら、望みのコード配列を発現させるために、原核および真核宿主細胞が使用し得る。原核細胞宿主の中ではE.coliが最も頻繁に使用されている。原核細胞用の発現制御配列は、プロモーターを含み、オペレーター部分、およびリボソーム結合部位を随意に含む。原核細胞宿主に適合するトランスファーベクターは、通常は、例えば、アンピシリンおよびテトラサイクリン耐性を付与するオペロンを含んだプラスミドpBR322、および、抗生物質耐性マーカーを付与する配列を含んだ種々のpUCベクターから誘導される。これらのマーカーは、選択によりうまく形質転換体を得るために使用し得る。通常使用される原核細胞の制御配列には、 $\beta$ -ラクタマーゼ(ペニシリナーゼ)、およびラクトースプロモーターシステム(Changら(1977), Nature 198:1056)、トリプトファン(trp)プロモーターシステム(Goeddelら(1980) Nucleic Acid Res. 8:4057)、および、 $\lambda$ -由来の $P_L$ プロモーターおよびN遺伝子リボソーム結合部位(Shimatakeら(1981) Nature 292:128)、およびtrpおよびlac UV5プロモーターの配列に由来するハイブリッドtacプロモーター(De Boerら(1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 292:128)が含まれる。以上のシステムは特にE.coliに適合したものである；所望するならば、BacillusあるいはPseudomonasの株のような他の原核細胞宿主も対応する制御配列と共に使用し得る。

【0124】真核細胞宿主には、培養システム中の酵母および哺乳類細胞が含まれる。Saccharomyces cerevisiae、Saccharomyces carlsbergensis、Klebsiella lactisおよびPichia pastorisは、最も一般的に使用される酵母宿主であり、便利な真菌宿主である。酵母に適合したベクターは、栄養素要求性変異株に原栄養菌性を変換、あるいは、野生株に重金属耐性を付与することによる、首尾良い形質転換体の選択を可能とするマーカーを有している。酵母に適合したベクターは、2micron複製開始点(Broachら(1983) Math Enz. 101:307)、CEN3およびARS1の組合せ、あるいは、宿主細胞ゲノムに適切な断片の組み込みをもたらす配列のような複製を保証する他の手段を使用し得る。酵母ベクター用の制御配列は、当分野で公知であり、解糖酵素合成のプロモーター(Hessら(1968) J. Adv. Enzyme Eng. 7:149; Hollandら(1978), J. Biol. Chem. 256:1385)を含み、これには3'フォスフォグリセレートキナーゼ(Hitzeman (1980), J. Biol. Chem. 25



5:2073)が含まれる。さらに、エノラーゼ遺伝子に由来するような転写停止信号(Holland (1981), J. Biol. Chem. 256:1385)も含まれ得る。特に有用な制御システムは、グリセルアルデヒド-3フォスフェートデヒドロゲナーゼ(GAPDH)プロモーター、あるいはアルコールデヒドロゲナーゼ(ADH)を調節し得るプロモーター、これもGAPDHに由来する転写停止信号、そして分泌が望ましいならば、酵母 $\alpha$ 因子からのリーダー配列を含むものである。加えて、作動可能に結合された転写調節領域および転写開始領域は、野生種生物では天然に結合しないような様式であり得る。これらのシステムは、欧州特許公開第120,551号、欧州特許公開第116,201号、および欧州特許公開第164,556号(本明細書ではこれら全てを参考文献として援用する)に詳細に記載されている。

【0125】発現用の宿主として入手可能な哺乳類細胞株は、当分野で公知であり、HeLa細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、ベビーハムスター腎臓(BHK)細胞、および多くの他の細胞株を含む、アメリカンタイプカルチャーコレクション(ATCC)から得られる多くの不死化細胞株が含まれる。哺乳類細胞用の適切なプロモーターもまた、当分野で公知であり、Simian Virus 40(SV40)(Fiers (1978), Nature 273:113)、ラウスサルコーマウイルス(PSV)、アデノウイルス(ADV)、およびウシバビローマウイルス(BPV)、からのもののようなウイルスプロモーターが含まれる。哺乳類細胞はまた、転写停止信号およびポリA付加配列を必要とし得る；発現を増大させるエンハンサー配列もまた含まれ得、そして遺伝子の増幅を引き起こす配列もまた望ましい。これらの配列は、当分野で公知である。哺乳類細胞中での複製に適したベクターは、ウイルスレプリコン、あるいは宿主ゲノムへのNANBVエピソードをコードする適切な配列の組込みを保証する配列を含む得る。

【0126】ワクシニアウイルスシステムもまた、哺乳類細胞中で外来DNAを発現させるために使用し得る。異種遺伝子が発現させるために、通常、この外来DNAはワクシニアウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子に挿入され、そして次に感染した細胞を選択し得る。この方法は当分野で公知であり、さらなる情報は以下の文献中に見いだされる[Mackettら、J. Virol. 49: 857-864 (1984) およびDNA Cloning, Vol. 2の第7章、IRL Press]。

【0127】加えて、ウイルス抗原は、バキュロウイルスシステムにより昆虫細胞中で発現し得る。SummerおよびSmithによるバキュロウイルスの発現に関する概説ガイドブックは、A Manual of Methods for Baculovirus Vectors and Insect Cell Culture Procedures (Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555)である。異種遺伝子をバキュロウイルスゲノムに組込むために、まず遺伝子を、バキュロウイルス配列を幾つか含むトランスファーベクターにクローニングする。このトランスファーベクターを、昆虫細胞へ野生型ウイルス

と共に同時にトランスフェクトすると、野生型ウイルスとの組換えが起こる。通常トランスファーベクターは、異種遺伝子が野生型バキュロウイルスの多面体遺伝子を崩壊させるように作成されている。この組換えウイルスに感染した細胞は、野生型ウイルスに感染した細胞とは表現形が異なっているので、この崩壊により組換えウイルスの選択が容易となる。精製された組換えウイルスは、細胞を感染させ、異種遺伝子が発現させるために使用し得る。もしシグナルペプチドを異種遺伝子のフレームに結合してあれば、外来タンパク質は培地中に分泌され得る；そうでない場合には、タンパク質は細胞の溶解物に結合している。さらなる情報は、SmithらのMol. & Cell. Biol. 3: 2156-2165 (1983)、あるいはLuckowおよびSummersのVirology 17:31-39 (1989)を参照。

【0128】形質転換は、例えば、ウイルス中にポリヌクレオチドをパッケージングしそして宿主をウイルスで変換する、およびポリヌクレオチドの直接の取り込みを含む、ポリヌクレオチドを宿主細胞中に導入するための任意の方法によって行い得る。使用される形質転換法は、形質転換される宿主に依存する。直接の取り込みによる細菌の形質転換は一般に、塩化カルシウムあるいは塩化リビジウムでの処理を用いている(Cohen (1972), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69:2110; Maniatisら(1982), MOLECULAR CLONING; A LABORATORY MANUAL (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.))。直接の取り込みによる酵母の形質転換は、Hinnenら(1978) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:1929の方法により行い得る。直接の取り込みによる哺乳類細胞の形質転換は、GrahamおよびVan der Eb (1978), Virology 52:546のリン酸カルシウム沈降法を、あるいはその公知の種々の変法を用いて行い得る。

【0129】ベクターの構築は、当分野で公知の方法を用いて行う。部位特異的なDNAの開裂を、適切な制限酵素で、これらの市販されている酵素の製造者により通常は特定された条件下で、処理することにより行われる。開裂された断片は、Methods in Enzymology (1980) 65:499-560に見いだされる一般的方法に従って、ポリアクリルアミドあるいはアガロースのゲル電気泳動法を用いて分離し得る。非平滑末端の開裂断片は、E. coli DNAポリメラーゼI(クレナウ断片)を用い、混合物中の適切なデオキシヌクレオチド三リン酸(dNTP)の存在下で、平滑末端化し得る。S1ヌクレアーゼでの処理もまた使用し得、如何なる一本鎖DNA部分も加水分解される。

【0130】ライゲーションは、標準的なバッファーおよび温度条件を用い、T4 DNAリガーゼおよびATPを用いて行われる；非平滑末端のライゲーションは、平滑末端のライゲーションに比べ、ATPおよびリガーゼが少なく済む。ベクター断片がライゲーション混合物の一部として用いられた場合、5'-リン酸を除去し、そしてその結果ベクターの再ライゲーションを妨害する目的でし

ばしば、ベクター断片を細菌アルカリフォスファターゼ (BAP) あるいは仔ウシ腸アルカリフォスファターゼで処理する；あるいは、ライゲーションを妨害するために不要な断片の制限酵素消化が使用され得る。ライゲーション混合物は、E.coliのような適切なクローニング宿主に形質転換され、成功した形質転換体は、例えば抗生物質耐性により選択され、そして正しい構築に関してスクリーニングされる。

【0131】合成オリゴヌクレオチドは、Warner (1984), DNA 3:401に記載されているように、自動オリゴヌクレオチド合成装置を用いて調製し得る。所望するならば、 $^{32}\text{P}$ -ATPの存在下で、反応の標準的条件を用いて、ポリヌクレオチドキナーゼで処理することで、合成鎖を $^{32}\text{P}$ で標識し得る。cDNAライブラリーから単離されたものを含む、DNA配列は、例えば、Zoller (1982), Nucleic Acids Res. 10:6487に記載された部位特異的変異誘発を含む、既知の方法で改変し得る。

【0132】DNAライブラリーは、GrunsteinおよびHogness (1975), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73:3961の方法を用いてプローブし得る。簡単に説明すると、この方法では、プローブされるDNAはニトロセルロースフィルターに固定され、変性され、そしてバッファーでプレハイブリダイゼーションされる。バッファー中のホルムアミドの%、および、プレハイブリダイゼーションおよび引き続くハイブリダイゼーション工程の時間および温度条件は、必要とされるストリンジェンシーに依存する。低いストリンジェンシー条件を要求するオリゴマープローブは一般に、低いホルムアミド濃度、低い温度、および長いハイブリダイゼーション時間で用いられる。cDNAあるいはゲノム配列から由来するもののように、30個あるいは40個より多いヌクレオチド以上を含んだプローブには、一般に、より高い温度、例えば約40~42°C、そして高い%の、例えば50%のホルムアミドを用いる。プレハイブリダイゼーションの後、5'- $^{32}\text{P}$ -標識オリゴヌクレオチドプローブをバッファーに加え、そしてフィルターをハイブリダイゼーション条件下でこの混合物とインキュベートする。洗浄後、処理されたフィルターをオートラジオグラフィーにかけ、ハイブリダイゼーションしたプローブの位置を表示させる；元のアガープレート上の対応する位置のDNAを、所望のDNAの材料として使用する。

【0133】酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) を、抗原あるいは抗体の濃度の測定に使用し得る。この方法は、抗原あるいは抗体のいずれかに結合させた酵素に依存し、そして、結合した酵素活性を定量的標識として用いる。抗体を測定するために、既知の抗原を固相 (例えば、マイクロプレートあるいはプラスチックカップ) に固定し、試験する希釈血清とインキュベートし、洗浄し、酵素で標識した抗イムノグロブリンとインキュベートし、そして再び洗浄する。標識に適した酵素は、当分

野で公知であり、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼを含む。固相に結合した酵素活性を特異的基質の添加、そして生成物形成あるいは基質の利用を比色的に測定により測定する。結合した酵素活性は、結合した抗体量の直接機能である。

【0134】抗原を測定するには、既知の特異的抗体を固相に固定し、抗原を含む試験材料を添加し、インキュベーションの後、固相を洗浄し、そして第二の酵素標識した抗体を加える。洗浄後、基質を添加し、そして酵素活性を比色的に測定し、そして抗原濃度に関連させる。

【0135】

【実施例】

(実施例1) この実施例には、HCV/J1およびHCV/J7のヌクレオチド配列のクローニングが記載されている。

【0136】両方のHCVビリオン源として用いられた血液試料は、抗HCV抗体アッセイで陽性であった。これらの試料からのHCV分離株を、HCV/J1およびHCV/J7と命名した。J1分離株を含有する血液試料の感染力は、受血者の将来的な輸血後の経過の研究によって確認された。National Tokyo Chest Hospitalの外科のTohru Katayama博士は、非A型、非B型肝炎の患者から採血した。さらに彼は、これらの患者への各々の血液供与者からの血液試料も集めた。次に、これらの試料を、C100-3 HCV1抗原 (欧州特許公開第318,216号) に対する抗体についてアッセイしたところ、供与者の1人からの血液が陽性であった。

【0137】血液試料からのRNAの単離は、超遠心分離による血液試料中のビリオンをベレット化することから始めた [Bradley, D.W., McCaustland, K.A., Cook E.H., Schable, C.A., Ebert, J.W. および Maynard, J.E. (1985) Gastroenterology 88, 773-779]。次に、RNAを、塩化グアニジニウム/塩化セシウム法によってベレットから抽出し [Maniatis T., Fritsch, E.P., および Sambrook J. (1982) "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor]、そして、さらに尿素存在下に、フェノール/クロロホルム抽出によって精製した [Berk, A.J., Lee, F., Harrison, T., Williams, J. および Sharp, P.A. (1979) Cell 17, 935-944]。

【0138】HCV1のヌクレオチド配列のC/E、E、E/NS1、NS3およびNS5ドメインから、合成オリゴヌクレオチドプライマーの5組のペアを設計して、J1およびJ7のゲノムから断片を単離した。プライマーの第1番目の組は、コアドメインおよびいくつかのエンベロープドメインの配列を単離して分析するためのものであった。プライマーの第2番目の組は、エンベロープドメイン中の配列の単離のためのものであった。プライマーの第3番目の組は、推定エンベロープドメインおよび非構造ドメイン1、すなわちNS1の領域が重なったドメインの断片を単離するためのものであった。プライマーの第4および

第5番目の組は、非構造ドメイン3および5、すなわちNS3およびNS5の断片を単離するために用いた。種々のプライマーの配列を以下に示す：C/E領域のプライマーの配列は、

21S 5' CGTGCCCCGCAAGACTGCT 3'

J80A 5' CCGTCTCCAGAACCGGAC 3'

である。

【0139】E領域のプライマーの配列は、

71S 5' GCCGACCTCATGGGGTACAT 3'

J132A 5' AACTGCGACACCACTAAGGC 3'

である。

【0140】E/NS1の領域のプライマーの配列は、

127S 5' TGGCATGGGATATGATGATG 3'

166A 5' TTGAAGTGTGGTGATAGAA 3'

である。

【0141】NS3領域のプライマーの配列は、

464S 5' GGCTATACCGCGACTTCGA 3'

526A 5' GACATGCATGTCATGATGTA 3'

である。

【0142】NS5領域のプライマーの配列は、

870S 5' GCTGGAAGAGGGTCTACTA 3'

917A 5' GTTCTTACTGCCCAGTT  
GAA 3'

である。

【0143】アンチセンスプライマー166A、526Aあるいは911Aの1 $\mu$ gを10ユニットの逆転写酵素(Biorad)に加えて、単離されたRNAを鋳型としてからcDNA断片を合成した。次に、適切なセンスプライマー21S、71S、127S、464Sあるいは870Sの1 $\mu$ gを加えた後、cDNA断片を標準的なポリメラーゼチェーンリアクションによって増幅した[Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn G.T., Erlich, H.A. および Arnheim, N. (1985) Science 230, 1350-1354]。

【0144】PCR法によって増幅されたcDNA断片をゲル単離し、pUC119のSmaI部位(Vieira, J. および Messing, J. (1987) Methods in Enzymology 153, 3-11)、あるいはクロニングベクターcharomid 9-42[Saito, I. および Stark, G. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:8664-8668]の誘導体であるcharomid SBのSnaBI部位に平滑末端結合してクローン化した。5個のウイルスドメインの断片を含有するクローンを首尾よく構築した。

【0145】(実施例2)日本の分離株J1およびJ7のPCR反応から、C/E、E、E/NS1、NS3およびNS5のそれぞれの領域の、3つの個々のクローンを、ジデオキシチエンターミネーション法によって配列決定した。

【0146】C/E以外の全領域の配列は、J1分離株から単離した。C/E領域の配列のみ、J7分離株から単離した。意外にも、両方の分離株から単離された断片は、HCV1ゲノムから推測されるよりも長くも短くもなかった。しかし、同じ領域の配列を含有するクローン間には異質

性が存在する。従って、コンセンサス配列は、図1～図13にそれぞれ示されているように、C/E、E、E/NS1、NS3およびNS5のそれぞれのドメインについて構築した。

これらの相違は、PCRでの増幅中に無作為に生じた人工なものとして説明され得る[Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn G.T., Erlich, H.A. および Arnheim, N. (1985) Science 230, 1350-1354]。他の説明は、1人の健康な保持者の血漿に1つ以上のウィルスゲノムが存在していて、これらのゲノムがヌクレオチドレベルでは異質であるというものである。

【0147】この点を明確にするために、何個のヌクレオチドの相違がアミノ酸の変化を導くのか、例としてJ1分離株のNS3ドメインの配列を用いて決定した。5個のヌクレオチドの相違のうち、3個がアミノ酸コドンの3番目の位置であって、アミノ酸配列を変化させない。残りの2個のヌクレオチドの相違の両方とも、アミノ酸コドンの1番目の位置であって、スレオニンからアラニンへの変化、およびプロリンからアラニンへのアミノ酸の変化を生じた。これら全ては、小さな中性アミノ酸残基である。同様に、他のドメインでのヌクレオチドの相違が分析されるときも、多くのサイレントな保持された変異が認められる。これらの結果は、1人の健康な供与者の血漿中のHCVゲノムのヌクレオチド配列が、ヌクレオチドレベルで異質であることを示唆している。

【0148】さらに、各々の断片に対するコンセンサス配列がまとめられると、各々の配列を、図14～図27に記載されているHCV1分離株と比較した。図14～図16では、J7分離株のC/E領域の断片が、HCV1分離株に対して、512/552で92.8%のヌクレオチド相同性および150/154で97.4%のアミノ酸相同性を有することが示されている。図17～図19では、J1のEドメインの断片は、HCV1に対して僅かに低いヌクレオチド相同性およびアミノ酸相同性を、それぞれ76.2%および82.9%有することが示されている。エンベロープドメインおよび非構造ドメイン1個に重なっているJ1分離株の断片は、図20および図21に示されているように、HCV1に対して最も低い相同性を有する。そこでは、J1分離株は、HCV1に対して71.5%ヌクレオチド相同性および73.5%アミノ酸相同性を有する。図22～図24では、J1のNS3ドメインの断片とHCV1との比較が示されている。ヌクレオチド配列間の相同性は79.8%であって、一方、分離株間のアミノ酸相同性は、アミノ酸で179/194、あるいは92.2%と大変高い。図25～図27では、J1のNS5配列とHCV1と間の相同性が示されている。この配列は、84.3%のヌクレオチド相同性および88.7%のアミノ酸相同性を有する。

【0149】上記実施例に記載されているベクターは、Patent Microorganism Depository, Fermentation Institute, Agency of Industria

Science and Technology  
at1-3, Higashi 1-chome Ts  
ukuba-chi, Ibaragi-ken 30  
5, Japanに寄託されていて、ブダペスト条約の  
もとに維持されている。受託番号および寄託日は表1に  
示されている。

【0150】(実施例3) HCV/J1クローンであるJ1-151  
9は、本質的には上記記載の方法によって単離した。し  
かし、単離に用いたプライマーは、J159Sおよび199Aで  
あった。オリゴマーのプライマーJ159Sおよび199Aの配  
列は、以下に示すものであって、これらはJ1-1216およ  
びHCV1中の配列に基づいている。

J159S 5' ACT GCC CTG AAC TGC AAT GA 3'  
199A 5' AAT CCA GTT GAG TTC ATC CA 3'

【0151】クローンJ1-1519は、367ヌクレオチドのHC  
V cDNA配列を含有する。これはNS1領域の5'側のほとん  
ど半分に広がっていて、そしてE領域のクローンJ1-121  
6と31個のヌクレオチドが重なっている。この領域に広  
がっている3つのそれぞれのクローンは配列決定され、  
3つのクローンから得たこの領域の配列は、同一であっ  
た。J1-1216(図中ではJ1として示されている)のHCV cDN  
Aの配列およびここに(上記に示されているヌクレオチド  
配列)コードされるアミノ酸配列が図60～図62に示  
されている。さらに、図60～図62には、J1-1216と  
プロトタイプHCV1 cDNAの比較し得る領域との配列の相  
違(図中ではPTで示されている)、およびそれによって得  
られるコードされたアミノ酸の変化が示されている。J1  
-1216とHCV1 cDNAとの間の相同性は、ヌクレオチドレ  
ベルで約70%、そしてアミノ酸レベルで約75%である。

【0152】J1分離株の推定されるコアからNS1領域に  
かけての配列組成は、図63～図68に示されていて、  
さらに、図中にはJ1配列コードされたアミノ酸が示され  
ている。HCV1プロトタイプ配列からの変化は、J1のヌク  
レオチド配列の下に行に示している。そして破線は相同  
の配列を示している。HCV1プロトタイプ配列中にコード  
された相同でないアミノ酸は、HCV1のヌクレオチド配列  
の下に示されている。

【0153】J1/1519 HCV cDNAを含有するクローン化さ  
れたもの(pS1-1519)は、DH5αに維持されていてPatent  
Microorganism Depositoryに寄託されている。

【0154】(実施例4) HSV1(欧州特許公開第318,216  
号を参照)の5-1-1ポリペプチドをコードする領域を取り  
囲む、推定のNS3-NS4領域、および推定NS1-E領域から  
のC200-C100領域を含む、J1分離株の数個の領域をPCR  
法によって増幅した。このC200-C100領域は、プロトタ  
イプHCV1の3799から5321のヌクレオチドを含む。抽出  
を、プロティナーゼKおよびドデシル硫酸ナトリウム(S  
DS)(Maniatis(1982)、前述)の存在下でグアニジニウム  
チオシアネートで行った以外は、上記のようにRNAを抽  
出した。各々のプライマー1μM、40ユニットのRNアー

ゼインヒビター(RNASIN)、5ユニットのAMV逆転写酵  
素、および反応に必要な塩および緩衝液を含む25μl反  
応液中でインキュベートして、RNAをHCV cDNAへ転写し  
た。指定された領域からのHCVcDNAのセグメントの増幅  
は、合成オリゴマーの16-merプライマーのペアを用い  
て行った。PCR増幅を3回(PCR I、PCR II、およびPCR II  
I)行って完成した。PCR増幅の2回目および3回目(PCR  
I)には、異なったPCRプライマーの組を用いた。1回目  
のPCR反応物を10倍に希釈し、そして新しいプライマー  
を用いて複数回のPCR増幅を行ったので、最終的に最高  
で50%の1回目のPCR反応(PCR I)の生成物がさらに増幅  
された。領域の増幅に用いたプライマーは、下記に示し  
た。J1分離株の配列由来のJ1C200-3を除いて、これらの  
プライマーは、プロトタイプHCV1配列由来であった。

【0155】NS3-NS4の「5-1-1」領域の増幅用のプラ  
イマー

PCR I

511/16A (センス、HCV1の1528番から始まるヌクレオチ  
ド由来)

5' AAC AGG CTG CGT GGT C 3'

511/16B (アンチセンス、HCV1の5260で終わるヌクレオ  
チド由来)

5' AGT TGG TCT GGA CAG C 3'

PCR II

511/35A (センス、HSV1の5057番から始まるヌクレオチ  
ド由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC TCG TCT TGT CCG GGA AGC CGG CAA TC  
3'

511/35B (アンチセンス、HSV1の5233番で終わるヌクレ  
オチド由来のHCV部分タンパク質；制限酵素部位には下  
線が引いてある)

5' CTTGAATTC CCT CTG CCT GAC GGG ACG CGG TCT GC  
3'

PCR III

511/35A (前述参照)

VSNrc7 (アンチセンス、HSV1の5804番で終わるヌクレオ  
チド由来である)

5' GTA GTG CGT GGG GGA AAC AT 3'

【0156】「NS1/E」領域の増幅用のプライマー

PCR I

J1(E2)3 (センス、HSV1の953番から始まるヌクレオチド  
由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC TGG CAT GGG ATA TGA TGA TG 3'

J1(E)4 (センス、HSV1の1087番から始まるヌクレオチド  
由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC TCC ATG GTG GGG AAC TGG GC 3'

J1rc12 (アンチセンス、HSV1の1995番で終わるヌクレオ  
チド由来であるHCV部分；制限酵素部位には下線が引い  
てある)

5' CTTGAATTC TAA CGG GCT GAG CTC GGA 3'



J1rc13 (アンチセンス、HSV1の1941番で終わるヌクレオチド由来であるHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTAGAATTC CGT CCA GTT GCA GGC AGC TTC 3'  
PCR II

J1rc13 (前記参照)

J11Z-1 (センス、HCV部分はHCV1の1641番から始まるヌクレオチド由来；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC CAA CTG GTT CGG CTG TAC A 3'

J11Z-2 (センス、HCV部分はHCV1の1596番から始まるヌクレオチド由来；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' TGA GAC GGA CGT GCT GCT CCT 3'

【0157】「NS3-NS4」領域のC200-C100領域用のプライマー

PCR I

J1C200-1 (センス、HCV1の3478番から始まるヌクレオチド由来である)

5' TCC TAC TTG AAA GGC TC 3'

J1C200-3 (アンチセンス、HCV1の4402番で終わるヌクレオチド由来である)

5' GGA TCC AAG CTG AAA TCG AC 3'

J1rc52 (アンチセンス、HCV1の5853番で終わるヌクレオチド由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTAGAATTC GAG GCT GCT GAG ATA GGC AGT 3'

511/16A (前記参照)

PCR II

J1C200-2 (センス、HCV1の3557番から始まるヌクレオチド由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC CCC GTG GAG TGG CTA AGG CGG TGG ACT 3'

J1C200-4 (アンチセンス、HCV1の4346番で終わるヌクレオチド由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC TCG AAG TCG CCG GTA TAG CCG GTC ATG 3'

511/35A (前記参照)

J1rc51 (アンチセンス、HCV1の5826番で終わるヌクレオチド由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTAGAATTC GGC AGC TGC ATC CTC CGG CAC 3'

【0158】増幅されたHCV cDNAは、クローニングしないで直接に、および/またはクローニングして、配列決定した。配列決定は、本質的にはShyamalaおよびAmes, J. Bacteriology 171:162 (1989)に記載されているように、アシンメトリックPCR法によって行った。この方法では、cDNAの増幅は、1つの鎖の増幅が優先して行われるように、プライマーの1つの濃度を制限(通常、約1:50の割合)して行う。次に、優先的に増幅された鎖は、ジデオキシチェインターミネーション法によって配

列決定される。

【0159】PCR法によるアシンメトリック配列決定に用いるプライマーを下記に示す。NS1領域用：J11Z-1およびJ1rc13(両方とも配列決定されている)；J11Z-2、J1rc13(両方の鎖で確認されている)。C200-C100のN末端領域、C200-C100のC末端領域、および5-1-1領域を含むNS3-NS4領域用：J1C200-2およびJ1C200-7(C200-C100のN末端領域に対する)およびJ1C200-4およびJ1C200-6(C200-C100のC末端領域に対する)；および511/35Aおよびhep 4(5-1-1領域に対する)。J1C200-2、J1C200-4、および511/35Aの配列は、前記に示されている；hep 4、J1C200-6、およびJ1C200-7の配列は、以下に示す。

hep 4 (HCV1の5415番から始まるヌクレオチド由来である)

5' TT GGC TAG TGG TTA GTG GGC TGG TGA CAG 3'

J1C200-6 (HCV1の3875番から始まるヌクレオチド由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC CGT ACT CCA CCT ACG GCA AGT TCC TT 3'

J1C200-7 (HCV1の3946番から始まるヌクレオチド由来のHCV部分；制限酵素部位には下線が引いてある)

5' CTTGAATTC GTG GCA TCC GTG GAG TGG CAC TCG TC 3'

【0160】「NS1」領域、C200-C100領域および5-1-1領域のアシンメトリック配列決定によって得られた配列は、それぞれ図69および図70、ならびに図71～図76に示されている。図中、J1配列にコードされるアミノ酸は、J1のヌクレオチド配列の上に示されている。J1配列とHCV1のプロトタイプヌクレオチド配列との差は、J1配列の下に示されている(棒線は、両方の配列の相同なヌクレオチドを示している)。HCV1のプロトタイプ配列の異なるコードされるアミノ酸配列は、HCV1のヌクレオチド配列の下に示されている。

【0161】NS1領域、C200-C100領域、および5-1-1領域のHCV cDNAをクローン化した。推定NS1領域の300bpおよび230bpの断片を、宿主HB101中で、商業的に入手可能なベクターの誘導体pGEM-3Zにクローン化して、そしてAW-300bpとしてATCCに寄託した。誘導体ベクターは、元来のpGEM-3Zポリリンカー、完全なAmp<sup>r</sup>遺伝子、およびE. coliでの複製に必要な遺伝子を維持している。HCV cDNA断片は、SacIおよびXbaIで取り出し得る。C200のN末端断片770bpを含むHCV cDNAを、HB101でpM1Eにクローン化して12クローンをプールし、AW-770bp-NとしてATCCに寄託した。HCV cDNAは、HaeIIによってベクターから取り出し得る。得られたHaeII断片は、5'末端および3'末端にそれぞれ300bpおよび250bpのベクターDNAを含む。また700bpのC200のC末端断片(AW-700bp-C)を含むHCV cDNAを、M13mp10にクローン化して宿主DH5α-F'に維持した；クローニングはベクターのポリリンカー部位に行った。得られたファージをプールして、AW

-700bp-NあるいはAW-700bp-Cとして1990年9月11日にATCCに寄託した。HCV1の5-1-1領域に等しいJ1からのHCVcDNAを、mp191 R1部位にクローン化し、そしてDH5 $\alpha$ -F'中に維持した。このクローニングからのいくつかのm13ファージ上清をプールして、J1 5-1-1としてATCCに1990年9月11日に寄託した。HCV cDNAはファージをEcoRI処理して得られ得る。J1 5-1-1およびAW-700bp-NあるいはAW-700bp-Cの受託番号は、ATCCの(301)881-2600に電話で問い合わせれば得られる。

【0162】上記のクローン化されたものは、アメリカンタイプカルチャーコレクション(ATCC)に寄託されている。

【0163】(実施例5) J1分離株の予想される「NS1」領域の配列を含有するHCV cDNAライブラリーは、 $\lambda$ -gt22に直接クローニングすることによって得られた。

「NS1」領域は、HCV1のプロトタイプ核酸配列の番号系の、ヌクレオチド約1460番からヌクレオチド約2730番に広がっている。ここで、ヌクレオチドの1番目は、推定されるポリタンパク質の開始メチオニンコドンの最初のヌクレオチドである。HCV cDNAの1番目および2番目の鎖の合成用のプライマーは、それぞれJHC67およびJHC68であって、RNA源はJ1血漿であったこと以外は、クローニングは、本質的には、HanおよびRutterのGENETIC ENGINEERING, Vol.10 (J.K.Setlow編, Plenum publishing Co.,1988)に記載されている方法によってなされた。この方法では、RNAは低温においてグアニジウムチオシアネートで抽出する。次に、全長のcDNAに変換し、これを $\lambda$ ファージに、lacZプロモーターの特定の方向にクローニングする。この方法によって、J1 RNAに対するHCV cDNAを、 $\lambda$ -gt22のNotI部位に挿入した。ライブラリー中に「NS1」配列が存在することは、Alx54プローブを用いて検出した。

【0164】図63～図68に示されている領域と約20ヌクレオチドが重なって、この領域から下流の「NS1」領域の配列は、PCR増幅用のプライマーとしてAlx61およびAlx62に変えて、上記のアシンメトリック配列決定法によって決定した。得られた配列は、図77および図78に示されている。(PCR増幅は、ヌクレオチドの約1930番からヌクレオチドの約2340番の領域であって、この領域は、図69および図70に示されている配列にも含まれることに注意。)  $\lambda$ -gt22のHCV cDNAライブラリーを得るため、および「NS1」領域の部分の配列を決定するために用いたプライマーおよびプローブの配列は、以下に示した。

#### JHC 67

5' GAGCG GGCCG CCTCC GTGTC CAGCG CGT 3'

#### JHC 68

5' CGTGC GGCCG CAAGA CTGCT AGCCG AGGT 3'

#### ALX 61

5' ACCTG CCACT GTGTA GTGGT CAGCA GTAAC 3'

#### ALX 62

5' ACGGA CGTCT TCGTC CTTAACAATA CCAGG 3'

#### ALX 54

5' GAAC T TGCG ATCTG GAAGACAGGG ACAGG 3'

【0165】配列決定された領域由来のJ1 HCV cDNAの400bpの断片を、pGEM3zにクローン化してHB101に維持した。HCV cDNAは、SacIおよびXbaIによってベクターから取り出し得る。ベクター(JH-400bp)で形質転換された宿主細胞は、ATCCに寄託されている。

【0166】プールされた、DNAライブラリーは、J1血清からつくった。プールされたライブラリーはJ1ゲノムを全般にわたって含み、HCV-J1  $\lambda$  gt22として同定される。プールされたcDNAライブラリーは、11個の別々のcDNAライブラリーの一部をプールしてつくった。このライブラリーは、そのゲノムを全般にわたって含んだHCVcDNAを得るために設計されたプライマーからライブラリーをつくること以外は、上記の直接(directional)クローニング法によって調製した。このプライマーは、HCV1の配列由来であって、JHC67およびJHC68を含んでいた。HCV cDNAを、 $\lambda$ -gt22のNotI部位に挿入した。プールされたcDNAライブラリー-HCV-J1  $\lambda$  gt22は、ATCCに寄託されている。

【0167】(実施例6) 図63～図68に示されている配列の上流のポリヌクレオチドの領域の配列を決定した。この領域は、HCV-1(図29～図59参照)のヌクレオチドの-267位から始まり、560個のヌクレオチドに広がる。J1血清から抽出したRNAからHCV cDNAを調製し、そしてPCR法によってHCV cDNAを増幅して配列決定がなされた。

【0168】RNIは、プロテイナーゼKおよびドデシル硫酸ナトリウム(SDS)で処理した後、血清100 $\mu$ lから抽出した。試料をフェノールクロロホルムで抽出し、RNAをエタノールで沈澱させた。

【0169】J1分離株由来のHCV cDNAを、沈澱させたRNAを0.01MのMeHgOHで変性させて調製した；10分間室温で放置した後、2-メルカプトエタノールを水銀イオンを離すためにsequesterに加えた。直ちに、cDNA合成の第一番目の鎖用の混合物を加えて、37°Cで1時間インキュベートを続けた。アンチセンス鎖の合成の条件を、以下に示した：50mM Tris HCl, pH8.3、75mM KCl、3mM MgCl<sub>2</sub>、10mMジチオスレイトール、500 $\mu$ Mの各々のデオキシヌクレオチド3リン酸、250pmolの特定のアンチセンスcDNAプライマーr25、250ユニットのMMLV逆転写酵素。第2の鎖(センス)を合成するために、合成反応成分を加えて14°Cで1時間インキュベートした。第2の鎖の反応成分を以下に示した：14mM Tris HCl, pH8.3、68mM KCl、7.5mM硫酸アンモニウム、3.5mM MgCl<sub>2</sub>、2.8mMジチオスレイトール、25ユニットのDNAポリメラーゼIおよび1ユニットのRNアーゼH。反応は、試料を95°Cで10分間加熱して停止した。その後、氷上で冷却した。

【0170】HCV cDNAを、PCRを2回行って増幅した。1回目は、20 $\mu$ lのcDNA混合物を用いて行った。PCR反応条件を以下に示した：10mM Tris HCl、pH8.3、50mM KC1、1.5mM MgCl<sub>2</sub>、0.002%ゼラチン、各々のデオキシヌクレオチド3リン酸200mM、および2.5ユニットのAmplitaq。PCRの温度サイクルは、以下に示すとおりであった：94℃1分間、50℃1分間、72℃1分間、40回繰り返した後、72℃7分間。PCRの第2回目は、PCR産物の特異性を増すために、組み合わされたプライマー(すなわち、PCR増幅の第1回目の産物の内部領域に結合されたプライマー)を用いて行われた。第1回目のPCR反応物の1パーセントを、プライマーを取り替え、そしてPCR反応の第2工程を、50℃を60℃に変えて行った以外は、本質的には第1回目のように増幅した。PCRの第1回目に用いたプライマーは、ALX90およびr14であった。PCRの第2回目に用いたプライマーは、r14およびp14であった。

【0171】HCV cDNAの合成用およびPCR法用のプライマーの配列を以下に示した：

r25

5' ACC TTA CCC AAA TTG CGC GAC CTA 3'

ALX90

5' CCA TGA ATC ACT CCC CTG TGA GGA ACT A 3'

r14

5' GGG CCC CCAG CTA GGC CGA GA 3'

p14

5' AAC TAC TGT CTT CAC GCA GAA AGC 3'

【0172】PCR産物をゲル精製し、約615bpの位置に移動したものを単離し、そして標識に<sup>32</sup>P-ATPを用いて、Sangerのジデオキシチェーンターミネーション法の変法によって配列決定した。この変法では、配列の複製はプ

ライマーとしてP32およびR31を用いて開始した；2本鎖のDNAを複製の前に、3分間95℃で分離し、標識されたジデオキシによって停止するポリヌクレオチドの合成は、業者の指針に従って、Bstポリメラーゼ(BioRad Corp.より入手した)で触媒した。配列決定は、シーケンシング反応当りPCR産物500ngから1 $\mu$ gを用いて行った。

【0173】プライマーP32(センス)およびR31(アンチセンス)は、それぞれに、HCV1配列のヌクレオチド-137から-115およびヌクレオチド192から173由来であった。プライマーの配列を以下に示す。

P32プライマー

5' AAC CCG CTC AAT GCC TGG AGA TT 3'

R31プライマー

5' GGC CGX CGA GCC TTG GGG AT 3'

ここでX=AあるいはG

【0174】5'非翻訳領域および推定「コア」領域の一部を含むJ1分離株中の領域の配列は、図79および図80に示す。図中、J1配列中にコードされるアミノ酸はヌクレオチド配列の上に示している。プロトタイプHCV1の配列は、J1配列の下に示している。棒線は、J1と相同な配列を示す。HCV1配列中にコードされる異なるアミノ酸は、HCV1配列の下に示されている。

【0175】上記の600bp(TC 600bp)のJ1配列を代表するHCV cDNA断片を、pGEM3Zにクローン化して、宿主HB101に維持した。HCV cDNA断片はSacIおよびXbaIで取り出し得る。これは、ATCCに寄託されている。

【0176】ブダベスト条約に基づいてPatent Microorganism Depositoryに寄託されているもの。

【0177】

【表1】

寄託物	受託番号	寄託日
<u>E. coli</u> DH5/pS1-8791a	BP-2698	9/15/1989
(このクローンは、J1のH58ドメインの427bpを含有する)		
<u>E. coli</u> HB101/pH1-1216c	BP-2594	9/15/1989
(このクローンは、J1のE/H51ドメインの351bpを含有する)		
<u>E. coli</u> HB101/pH1-4652d	BP-2595	9/15/1989
(このクローンは、J1のH53ドメインの588bpを含有する)		
<u>E. coli</u> DH5 $\alpha$ /pS1-713c	BP-2637	11/1/1989
(このクローンは、J1のEドメインの580bpを含有する)		
<u>E. coli</u> DH5 $\alpha$ /pS7-28c	BP-2638	11/1/1989
(このクローンは、J7のC/Eドメインの552bpを含有する)		
<u>E. coli</u> DH5 $\alpha$ /pS1-1519	BP3081	8/30/90

【0178】実施例に記載されている以下のベクターはアメリカンタイプカルチャーコレクション(ATCC), 12301 Parklawn Dr., Rockville, Maryland 20852に寄託されており、以下の受託番号が付けられた。寄託物はブダ

ベスト条約に基づいている。

【0179】

【表2】

寄託物	受託番号	寄託日
TC-600BP		
( <u>E. coli</u> HB101/pGEM3Z)	68393	9/11/90
JH-400bp		
( <u>E. coli</u> HB101/pGEM3Z)	68394	9/11/90
AW-300bp		
( <u>E. coli</u> HB101/pGEM3Z)	68392	9/11/90
AW-770bp-N		
( <u>E. coli</u> HB101/pM18)	68395	9/11/90
AW-700bp-CあるいはAW-700bp-N		
( <u>E. coli</u> DH5α-F'/M13mp10)		
J1 5-1-1		
( <u>E. coli</u> DH5α-F'/M13mp10)		
HCV-J1 λ gt22	40884	9/6/90

【0180】これらの寄託物は当業者の利用に提供される。これらの寄託物は、これらの寄託物が本発明を実施するために必要であることを認めるものでもなければ、本発明の開示に関する同等の実施態様が当業者の範囲内に属さないことを認めるものでもない。これらの寄託物の公衆への入手可能性は、本特許および他の特許のもとに、寄託物の製造、使用、あるいは販売のライセンスを与えるものではない。寄託物の塩基配列は、本発明の開示に引例として引用され、本発明に記載された全ての配列に関して争いを生じた場合にこれを規制する。

【0181】本発明が、当該分野の当業者のために特定の実施例によって記述したが、本発明の範囲はこれに制限されない。なぜならば、本発明の開示からさらに別の実施態様が、当業者には明らかだからである。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】J7 C/Eドメインの断片のコード鎖のコンセンサス配列を、異なる箇所とともに示す。

【図2】図1の続きである。

【図3】図2の続きである。

【図4】J1 Eドメインの断片のコード鎖のコンセンサス配列を、異なる箇所とともに示す。

【図5】図4の続きである。

【図6】図5の続きである。

【図7】J1 E/NS1ドメインの断片のコード鎖のコンセンサス配列を、異なる箇所とともに示す。

【図8】図7の続きである。

【図9】J1 NS3ドメインの断片のコード鎖のコンセンサス配列を、異なる箇所とともに示す。

【図10】図9の続きである。

【図11】図10の続きである。

【図12】J1 NS5ドメインの断片のコード鎖のコンセンサス配列を、異なる箇所とともに示す。

【図13】図12の続きである。

【図14】HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列とのJ7 C/Eのコンセンサス配列の相同性を示す。

【図15】図14の続きである。

【図16】図15の続きである。

【図17】J1 Eのコンセンサス配列の、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列との相同性を示す。

【図18】図17の続きである。

【図19】図18の続きである。

【図20】J1 E/NS1のコンセンサス配列の、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列との相同性を示す。

【図21】図20の続きである。

【図22】J1 NS3のコンセンサス配列の、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列との相同性を示す。

【図23】図22の続きである。

【図24】図23の続きである。

【図25】J1 NS5のコンセンサス配列の、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列との相同性を示す。

【図26】図25の続きである。

【図27】図26の続きである。

【図28】HCV1ゲノムの推定ゲノム構造を示す。

【図29】HCV1のORFヌクレオチド配列を示す。図では、ヌクレオチド番号1は、大きいORFの推定開始メチオニンの最初のAである。このヌクレオチドの上流のヌクレオチドはマイナスの番号が賦されている。

【図30】図29の続きである。

【図31】図30の続きである。

【図32】図31の続きである。

【図33】図32の続きである。

【図34】図33の続きである。

【図35】図34の続きである。

【図36】図35の続きである。

【図37】図36の続きである。

【図38】図37の続きである。



【図39】図38の続きである。  
 【図40】図39の続きである。  
 【図41】図40の続きである。  
 【図42】図41の続きである。  
 【図43】図42の続きである。  
 【図44】図43の続きである。  
 【図45】図44の続きである。  
 【図46】図45の続きである。  
 【図47】図46の続きである。  
 【図48】図47の続きである。  
 【図49】図48の続きである。  
 【図50】図49の続きである。  
 【図51】図50の続きである。  
 【図52】図51の続きである。  
 【図53】図52の続きである。  
 【図54】図53の続きである。  
 【図55】図54の続きである。  
 【図56】図55の続きである。  
 【図57】図56の続きである。  
 【図58】図57の続きである。  
 【図59】図58の続きである。  
 【図60】HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列と比べた、J1 NS1のドメイン(J1 1519)の断片のコード鎖のコンセンサス配列を示す。さらに、そこにコードされるアミノ酸も示す。  
 【図61】図60の続きである。  
 【図62】図61の続きである。  
 【図63】HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列と比べた、J1のコアからNS1ドメインのコンセンサス配列を示す。さらに、そこにコードされるアミノ酸も示す。

【図64】図63の続きである。  
 【図65】図64の続きである。  
 【図66】図65の続きである。  
 【図67】図66の続きである。  
 【図68】図67の続きである。  
 【図69】実施例4で決定されたJ1のNS1ドメインのコード鎖のコンセンサス配列を示す。さらに、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列およびHCV1およびJ1配列にコードされるアミノ酸を示す。  
 【図70】図69の続きである。  
 【図71】J1のNS3-NS4ドメインのC200領域のコード鎖のコンセンサス配列を示す。さらに、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列を示す。さらに、配列中にコードされるアミノ酸も示す。  
 【図72】図71の続きである。  
 【図73】図72の続きである。  
 【図74】図73の続きである。  
 【図75】図74の続きである。  
 【図76】図75の続きである。  
 【図77】実施例5で決定されたJ1のNS1ドメインのコード鎖のコンセンサス配列を示す。さらに、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列を示す。さらに、配列中にコードされるアミノ酸も示す。  
 【図78】図77の続きである。  
 【図79】J1の非翻訳ドメインおよびコアドメインのコード鎖のコンセンサス配列を示す。さらに、HCV1の同じドメインのヌクレオチド配列、および配列中にコードされるアミノ酸も示す。  
 【図80】図79の続きである。

【図3】

J7	481	Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu
		GCC GAC CTC ATG GGG TAC ATT CCG CTT
		c c b
		---
J7	508	Val Gly Ala Pro Leu Gly Gly Ala Ala
		GTC GGC GCC CCC TTA GGG GGC GCT GCC
J7	535	Arg Ala Leu Ala His Gly
		AGG GCC CTG GCA CAT GGT

【図27】

J1	413	Lys Gly Lys Tyr Leu
HCV1		TGT GGC AAG TAC CTC

【図6】

488	Thr Val Gln Asp Cys Asn Cys Ser Ile
	ACA GTA CAG GAC TGC AAC TGC TCA ATC
515	Tyr Pro Gly His Val Ser Gly His Arg
	TAT CCC GGC CAC GTA TCA GGC CAT CGC
	T c
	---
542	Met Ala Trp Asp Met Met Met Asn Trp
	ATG GCT TGG CAT ATG ATG ATG AAC TGG
569	Ser Pro Thr Ala
	TGG CCC ACG GCA

【図62】

日本・HCV(77)と異なるプロトタイプHCV(PT)の配列を示す。  
 追加本行下。T2/酸マチ : Gly=Ala=Pro=Ser=Thr,  
 Asp=Glu, Asn=Gln,  
 Arg=Lys=His, Leu=Ile=Val=Met, Phe=Trp=Tyr.  
 下線。追加本行下。マチマチの異なるT2/酸

## 【図1】

J7 1 AGCCCACTAGTGTTCGGTCCGAAAGGCCTTGTGGT  
相違  
10-  
変化位はAA

J7 37 ACTGCCTGATAGGGTCTTCGGAGTCCCCCGGGAGG

J7 73 TCTCGTAGACCGTCCATC ATG AGC ACA AAT  
Met Ser Thr Asn

J7 103 CCT AAA CCC CAA AGA AAA ACC AAA CGT  
Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg  
T G  
b 1  
--- Arg

J7 130 AAC ACC AAC CGT CGC CCA CAG GAC GTT  
Asn Thr Asn Arg Arg Pro Gln Asp Val  
c  
b  
---

J7 157 AAG TTC CCG GGC GGT GGT CAG ATC GTC  
Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val  
T  
1  
Leu  
b  
---

J7 184 GGT GGA GTT TAC TTG TTG CCG CGC AGG  
Gly Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg  
A  
b  
---

J7 211 GGC CCC AGG TTG GGT GTG CGT GCG ACT  
Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala Thr

## 【図2】

J7 238 AGG AAG ACT TCC GAG CGG TCC CAA CCT  
Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro  
A  
b  
---

J7 265 CGT GGA AGG CGA CAA CCT ATC CCC AAG  
Arg Gly Arg Arg Gln Pro Ile Pro Lys

J7 292 GCT CGC CGG CCC GAG GGC AGG ACC TGG  
Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp

J7 319 GCT CAG CCT GGG TAT CCT TGG CCC CTC  
Ala Gln Pro Gly Tyr Pro Trp Pro Leu

J7 346 TAT GGC AAT GAG GGC TTG CGG TGG GCA  
Tyr Gly Asn Glu Gly Leu Gly Trp Ala  
A  
b  
END

J7 373 GGA TGG CTC CTG TCA CCC CGC GGC TCT  
Gly Trp Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser

J7 400 CGG CCT AGT TGG GGC CCC AAT GAC CCC  
Arg Pro Ser Trp Gly Pro Asn Asp Pro  
T  
c  
c b  
--- Thr

J7 427 CGG CGT AGG TCG CGT AAT TTG GGT AAG  
Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys

J7 454 GTC ATC GAT ACC CTT ACA TGC GGC TTC  
Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys Gly Phe  
c  
1  
Leu

## 【図8】

J1 205 GGC CAC GTC ACC TCT ACA CTC ACG TCC  
Gly His Val Thr Ser Thr Leu Thr Ser  
T  
c  
---  
Ala

J1 232 CTC TTT AGA CCT GCG GCG TCC CAG AAA  
Leu Phe Arg Pro Gly Ala Ser Gln Lys

J1 259 ATT CAG CTT GTA AAC ACC AAT GGC AGT  
Ile Gln Leu Val Asn Thr Asn Gly Ser  
TC T  
ii 1  
Ser Leu

J1 286 TCG CAT ATC AAC AGG ACT GCC CTG AAC  
Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn  
T  
g  
---

J1 313 TGC AAT GAC TCC CTC CAA ACT GCG TTC  
Cys Asn Asp Ser Leu Gln Thr Gly Phe

J1 340 CTT GCC GCG CTC  
Leu Ala Ala Leu

## 【図11】

J1 518 ACG CCC CTG CTG TAT AGG CTA CGA GCC  
Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala  
A  
a  
Arg(-)

J1 545 GTC CAG AAT GAG GTC ACC CTC ACA CAC  
Val Gln Asn Glu Val Thr Leu Thr His

J1 572 CCT ATA ACC AAA  
Pro Ile Thr Lys

## 【図16】

J7 HCV1 481 GCC CAC CTC ATG GGG TAC ATT CCC CTT  
Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu  
A  
c

J7 HCV1 508 GTC GGC GCC CCC TTA GGG GGC GCT GCC  
Val Gly Ala Pro Leu Gly Gly Ala Ala  
T C T A

J7 HCV1 535 AGG GCC CTG GCA CAT GGT  
Arg Ala Leu Ala His Gly  
G  
c

【例5】

Val	Ile	Met	His	Ala	Pro	Gly	Cys	Val
GTG	ATC	ATG	CAT	GCC	CCC	GGG	TGC	GTG
Pro	Cys	Val	Arg	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser
CCC	TGC	GTT	CGG	GAG	AAC	AAT	TCC	TCC
						C		
						d		
						---		
Arg	Cys	Trp	Val	Ala	Leu	Thr	Pro	Thr
CGT	TGC	TGG	GTA	GCG	CTC	ACT	CCC	ACG
Leu	Ala	Ala	Arg	Asn	Ala	Ser	Val	Pro
CTC	GCG	GCC	AGG	AAT	GCC	AGC	GTC	CCC
Thr	Thr	Thr	Leu	Arg	Arg	His	Val	Asp
ACT	ACG	ACA	TTA	CGA	CGC	CAC	GTC	GAC
			G					
			d					
			---					
Leu	Leu	Val	Gly	Thr	Ala	Ala	Phe	Cys
TTG	CTC	GTT	GGG	ACG	GCT	GCT	TTC	TGC
Ser	Ala	Met	Tyr	Val	Gly	Asp	Leu	Cys
TCC	GCT	ATG	TAC	GTG	GGG	GAT	CTC	TGC
Gly	Ser	Val	Phe	Leu	Ile	Ser	Gln	Leu
GGA	TCT	GTT	TTC	CTC	ATC	TCC	CAG	CTG
				T				
				d				
				---				
Phe	Thr	Phe	Ser	Pro	Arg	Arg	His	Glu
TTC	ACC	TTC	TGG	CCT	CGC	CGG	CAT	GAG

【图24】

J1 HCV1	416	Ala GCA G	Tyr TAC	Gln CAA	Ala GCC	Thr ACA C	Val GTG	Cys TGC	Ala GCC T	Arg AGG
J1 HCV1	443	Ala GCT	Lys AAG C A Gln	Ala GCT C	Pro CCA T	Pro CCT C	Pro CCA	Ser TCG	Trp TGG	Asp GAT C
J1 HCV1	470	Gln CAA G	Met ATG	Trp TGG	Lys AAG	Cys TGT	Leu CTC T G	Ile ATA T	Arg CGG C	Leu CTA C
J1 HCV1	497	Lys AAG	Pro CCT C	Thr ACG C	Leu CTG C	His CAC T	Gly GGG	Pro CCA	Thr ACG A	Pro CCC
J1 HCV1	524	Leu CTG	Leu CTG A	Tyr TAT C	Arg AGG A	Leu CTA G	Gly GGA C	Ala GCC T	Val GTC T	Gln CAG
J1 HCV1	551	Asn AAT	Glu GAG A	Val GTC Ile	Thr ACC	Leu CTC G	Thr ACA G	His CAC	Pro CCT A	Ile ATA G C Val
J1 HCV1	578	Thr ACC	Lys AAA	taccatcatgacatgcatctc						

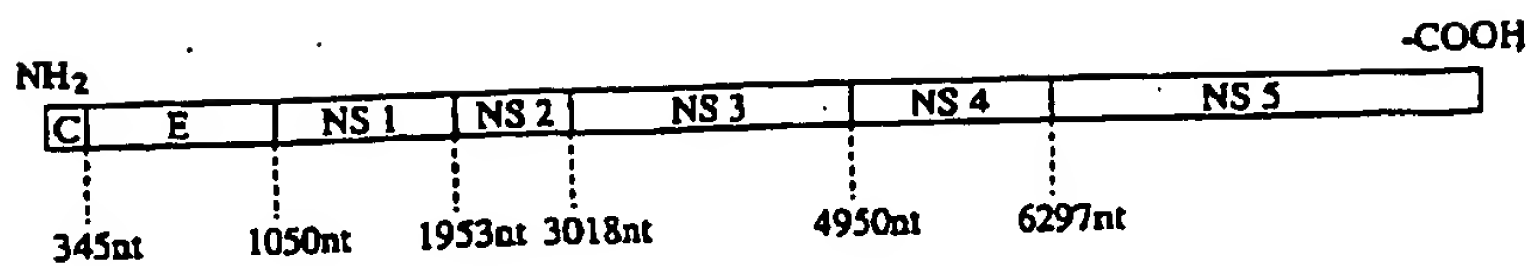
【図7】

J1	1	Asn Trp Ser Pro Thr									
		AAC TCG TCG CCC ACC									
相違 70- 変化位: aa											
J1	16	Ala	Ala	Leu	Val	Val	Ser	Gln	Leu	Leu	
		GCA	GCC	TTA	GTG	GTG	TCG	CAG	TTA	CTC	
		!!!									
J1	43	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Val	Met	Asp	Met	
		CGG	ATC	CCA	CAA	GCT	GTG	ATG	GAC	ATG	
J1	70	Val	Ala	Gly	Ala	His	Trp	Gly	Val	Leu	
		GTG	GCG	GGG	GCC	CAC	TGG	GGA	GTC	CTA	
										G	
										i	
										---	
J1	97	Ala	Gly	Leu	Ala	Tyr	Tyr	Ser	Met	Val	
		GCG	GGC	CTT	GCC	TAC	TAT	TCC	ATG	GTG	
										A	
										i	
										---	
J1	124	Gly	Asn	Trp	Ala	Lys	Val	Leu	Ile	Val	
		GGG	AAC	TGG	GCT	AAG	GTT	TTG	ATT	CTG	
J1	151	Met	Leu	Leu	Phe	Ala	Gly	Val	Asp	Gly	
		ATG	CTA	CTC	TTT	GCC	GGC	GTT	GAC	GGG	
J1	178	His	Thr	Arg	Val	Thr	Gly	Gly	Val	Gln	
		CAT	ACC	CGC	GTG	ACG	GGG	GGG	GTC	CAA	
		AG						A			
		gg						i			
		Ser						---			

【図9】

									Ser	
J1							1		C TCA	

【図28】



ヌクレオチドの番号は 66177-2-23。



【図10】

J1	248	Pro Ala Glu Thr Ser Val Arg Leu Arg	
		CCC CCT GAG ACC TCG GTT AGG TTG CCG	
J1	275	Ala Tyr Leu Asn Thr Pro Gly Leu Pro	
		GCT TAC CTA AAT ACA CCA GGG TTG CCC	
J1	302	Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp	J1
		GTC TGC CAG GAC CAT CTC GAG TTC TGG	8
J1	329	Glu Ser Val Phe Thr Gly Leu Thr His	J1
		GAG AGC GTC TTC ACA GGC CTC ACC CAC	35
J1	356	Ile Asp Ala His Phe Leu Ser Gln Thr	
		ATA GAC GCC CAC TTC TTG TCC CAG ACT	
J1	383	Lys Gln Ala Gly Asp Asn Phe Pro Tyr	J1
		AAG CAG CCA GGA GAC AAC TTC CCC TAC	62
J1	410	Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val Cys	J1
		CTG GTA CCA TAC CAA GCC ACA GTC TGC	89
J1	437	Ala Arg Ala Lys Ala Pro Pro Pro Ser	
		CCC AGG GCT AAG GCT CCA CCT CCA TCG	
		C	
		Ala(=)	
J1	464	Trp Asp Gln Met Trp Lys Cys Leu Ile	J1
		TGG GAT CAA ATG TGG AAG TGT CTC ATA	143
J1	491	Arg Leu Lys Pro Thr Leu His Gly Pro	J1
		CGG CTA AAG CCT ACG CTC CAC GGG CCA	170
		G	
		Ala	J1
			197

【図12】

J1	1	Leu Thr	
		C CTC ACC	
J1		相違	
		70-1	
		変化は aa	
J1	8	Arg Asp Pro Thr Val Pro Leu Ala Arg	
		CGT GAC CCC ACC GTC CCC CTT GCG CCG	
J1	35	Ala Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr	
		GCT GCG TCG GAG ACA GCT AGA CAC ACT	
		C	
		G	
		Thr(=)	
J1	62	Pro Val Asn Ser Trp Leu Gly Asn Ile	
		CCA CTC AAC TCC TCG CTA GGC AAC ATC	
J1	89	Ile Met Tyr Ala Pro Thr Leu Trp Ala	
		ATC ATG TAT GCG CCC ACT TTG TGG GCA	
		T	
		G	
		Ile(=)	
J1	116	Arg Met Ile Leu Met Thr His Phe Phe	
		AGG ATG ATT CTG ATG ACT CAC TTC TTC	
J1	143	Ser Ile Leu Leu Ala Gln Glu Gln Leu	
		TCC ATC CTT CTA GCC CAG GAG CAA CTT	
J1	170	Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr	
		GAA AAA GCC CTG GAT TGT CAA ATC TAC	
J1	197	Gly Ala Cys Tyr Ser Ile Glu Pro Leu	
		GGG GCC TGT TAC TCC ATT GAG CCA CTT	

## 【図14】

J7 1 AGCCGAGTAGTGTGGGTGCGAAAGGCCTTGTGGT  
HCV1

J7 37 ACTGCCTGATAGGGTGCTTGCGAGTGCCCCGGGAGG  
HCV1

J7 73 TCTCGTAGACCGTGCATC ATG AGC ACA AAT  
HCV1 C G

J7 103 Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg  
HCV1 CCT AAA CCC CAA AGA AAA ACC AAA CGT  
T A A  
Lys Asn  
\*\*\*

J7 130 Asn Thr Asn Arg Arg Pro Gln Asp Val  
HCV1 AAC ACC AAC CGT CGC CCA CAG GAC GTT  
C

J7 157 Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val  
HCV1 AAG TTC CCG GGC GGT GGT CAG ATC GTC  
T C T

J7 184 Gly Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg  
HCV1 GGT GGA GTT TAC TTG TTG CCG CGC AGG

J7 211 Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala Thr  
HCV1 GGC CCC AGG TTG GGT GTC CGT GCG ACT  
T A C G

J7 238 Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro  
HCV1 AGG AAG ACT TCC GAG CCG TCG CAA CCT  
A

## 【図15】

J7 265 Arg Gly Arg Arg Gln Pro Ile Pro Lys  
HCV1 CGT GGA AGG CGA CAA CCT ATC CCC AAG  
A T A T G

J7 292 Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp  
HCV1 GCT CGC CGG CCC GAG GGC AGG ACC TGG  
T

J7 319 Ala Gln Pro Gly Tyr Pro Trp Pro Leu  
HCV1 GCT CAG CCT GGC TAT CCT TGG CCC CTC  
C C

J7 346 Tyr Gly Asn Glu Gly Leu Gly Trp Ala  
HCV1 TAT GGC AAT GAG GGC TTG GGC TGG GCA  
GC  
Cys  
\*\*\*

J7 373 Gly Trp Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser  
HCV1 GGA TGG CTC CTG TCA CCC CGC GGC TCT  
T T

J7 400 Arg Pro Ser Trp Gly Pro Asn Asp Pro  
HCV1 CGG CCT AGT TGG GGC CCC AAT GAC CCC  
C CA  
Thr  
\*\*\*

J7 427 Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys  
HCV1 CGG CGT AGG TCG CGT AAT TTG GGT AAG  
C

J7 454 Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys Gly Phe  
HCV1 GTC ATC GAT ACC CTT ACA TGC GGC TTC  
G

## 【図21】

J1 208 His Val Thr Ser Thr Leu Thr Ser Leu  
HCV1 CAC GTC ACC TCT ACA CTC ACG TCC CTC  
ACT GTG GG T T GTT AG  
Thr Val Gly Phe Val  
\*\*\* \*\*\*

J1 235 Phe Arg Pro Gly Ala Ser Gln Lys Ile  
HCV1 TTT AGA CCT GGG GCG TCC CAG AAA ATT  
C C GC A C C AAG C G C  
Leu Ala Lys Asn Val  
\*\*\* \*\*\*

J1 262 Gln Leu Val Asn Thr Asn Gly Ser Trp  
HCV1 CAG CTT GTA AAC ACC AAT GGC AGT TGG  
G A C  
Ile

J1 289 His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys  
HCV1 CAT ATC AAC AGG ACT GCC CTG AAC TGC  
C C T C G  
Leu Ser  
\*\*\*

J1 316 Asn Asp Ser Leu Gln Thr Gly Phe Leu  
HCV1 AAT GAC TCC CTC CAA ACT GGC TTC CTT  
T AG A C C C G T G  
Asn Trp

J1 343 Ala Ala Leu  
HCV1 GCC GCG CTG  
A G T  
Gly

## 【図17】

J1	1	T	CCG	CTC	GTC	GGC	GCC	CCC	TTA	GGC	GGC	
		A						T	C	T	A	
J1	29		GCT	GCC	AGG	GCC	CTG	CCA	CAT	GGT	GTC	
								C		C		
J1	56		CCG	GTT	CTC	GAG	GAC	GGC	GTG	AAC	TAT	
						A						
J1	83		GCA	ACA	GGG	AAT	TTG	CCC	GGT	TGC	TCT	
								C	C	T	T	
J1	110		TTC	TCT	ATC	TTC	CTC	TTG	GCT	CTG	CTG	
								T	C		C	
J1	137		TCC	TGT	TTG	ACC	ATC	CCA	GCT	TCC	GCT	
			T	C		T	G	G	C		G	C
J1	164		TAT	GAA	GTG	CGC	AAC	GTG	TCC	GGG	ATA	
			C	C				TCC	A	C	C	T
J1	191		TAC	CAT	GTC	ACA	AAC	GAC	TGC	TCC	AAC	

## 【図18】

J1	218		TCA	AGC	ATT	CTG	TAT	GAG	GCG	GCG	GAC	
			G		T		C				C	T
J1	245		GTG	ATC	ATG	CAT	GCC	CCC	GGG	TGC	GTC	
			CC		C	C	A	T	G		C	
			Ala		Leu		Thr					
J1	272		CCC	TGC	GTT	CGG	GAG	AAC	AAT	TCC	TCC	
			T			T		GG	C	G	G	
								Gly		Ala		
								***				
J1	299		CGT	TGC	TGG	GTA	GCG	CTC	ACT	CCC	ACG	
			A	G	T		G	A	G	C	T	
								Met				
J1	326		CTC	GCG	GCC	AGG	AAT	GCC	AGC	GTC	CCC	
			G	G	C	A		G	G	AA	C	
			Val		Thr		Asp	Gly	Lys	Leu		
							***		***			
J1	353		ACT	ACG	ACA	TTA	CGA	CGC	CAC	GTC	GAC	
			G	G		CAG	C	T		A	T	
			Ala		Gln					Ile		
					***							
J1	380		TTG	CTC	GTT	GGG	ACG	GCT	GCT	TTC	TGC	
			C		T	C		GC	C	A	C	T
							Ser		Thr	Leu		

## 【図19】

J1 407 Ser Ala Met Tyr Val Gly Asp Leu Cys  
TCC GCT ATG TAC GTG GGG GAT CTC TGC  
G C C C  
Leu

J1 434 Gly Ser Val Phe Leu Ile Ser Gln Leu  
GGA TCT GTT TTC CTC ATC TCC CAG CTC  
G C T T G GG A  
Val Gly

J1 461 Phe Thr Phe Ser Pro Arg Arg His Glu  
TTC ACC TTC TCG CCT CGC CGG CAT GAG  
T C A G C C TC  
Trp  
\*\*\*

J1 488 Thr Val Gln Asp Cys Asn Cys Ser Ile  
ACA GTA CAG CAC TGC AAC TGC TCA ATC  
G ACG A GT T T  
Thr Gly  
\*\*\*

J1 515 Tyr Pro Gly His Val Ser Gly His Arg  
TAT CCC GGC CAC GTA TCA GGC CAT CGC  
T A A G T C  
Ile Thr

J1 542 Met Ala Trp Asp Met Met Met Asn Trp  
ATG GCT TGG GAT ATG ATG ATG AAC TGC  
A

J1 569 Ser Pro Thr Ala  
TCG CCC ACG GCA  
C T A G  
Thr

## 【図20】

J1 1 Asn Trp Ser Pro Thr Ala  
AAC TCG TCG CCC ACG GCA  
HCV1 C T A G  
Thr

J1 19 Ala Leu Val Val Ser Gln Leu Leu Arg  
GCC TTA GTG GTG TCG CAG TTA CTC CCG  
G G A A G T C G  
Met Ala

J1 46 Ile Pro Gln Ala Val Met Asp Met Val  
ATC CCA CAA GCT CTC ATG GAC ATG GTG  
C A T A C  
Ile Leu Ile

J1 73 Ala Gly Ala His Trp Gly Val Leu Ala  
GGC GGG GCC CAC TCG CCA GTC CTA GCG  
T T T G

J1 100 Gly Leu Ala Tyr Tyr Ser Met Val Gly  
GGC CTT GCC TAC TAT TCC ATG GTG GCG  
A A G T TC  
Ile Phe

J1 127 Asn Trp Ala Lys Val Leu Ile Val Met  
AAC TCG GCT AAG GTT TTG ATT GTG ATG  
G C C G A C  
Val Leu

J1 154 Leu Leu Phe Ala Gly Val Asp Gly His  
CTA CTC TTT GCC GGC GTT CAC GGC CAT  
G A C C G A  
Ala Glu  
\*\*\*

J1 181 Thr Arg Val Thr Gly Gly Val Gln Gly  
ACC CGC GTG ACG GGG GGG GTG CAA GGC  
A C C A AGT GCC  
His Ser Ala  
\*\*\*



## 【図22】

J1 HCV1	1	ggctataccggcgacttcga	Ser Val Ile C TCA GTG ATC G A
J1 HCV1	11	Asp Cys Asn Thr Cys Val Thr Gln Thr GAC TGT AAC ACA TGT GTC ACT CAG ACG C T G C A	
J1 HCV1	38	Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe GTC GAT TTC AGC TTC GAT CCC ACC TTC C T C T	
J1 HCV1	65	Thr Ile Glu Thr Thr Thr Val Pro Gln ACC ATC GAG ACG ACG ACC GTG CCC CAA T A TC G C C Ile	
J1 HCV1	92	Asp Ala Val Ser Arg Thr Gln Arg Arg GAT GCG GTT TCG CGC ACG CAG CGG CGA T C C T A T G	
J1 HCV1	119	Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg Arg Gly GGT AGG ACT GGC AGG GGC AGG ACA GGC C G A CC Lys Phe	
J1 HCV1	146	Ile Tyr Arg Phe Val Thr Pro Gly Glu ATC TAT AGG TTT GTC ACT CCA GGA GAA C A G A G G G Ala	
J1 HCV1	173	Arg Pro Ser Ala Met Phe Asp Ser Ser CGG CCC TCG GCG ATG TTC GAT TCT TCG C C GC C G C Gly	

## 【図23】

J1 HCV1	200	Val Leu Cys Glu Cys Tyr Asp Ala Gly GTC CTA TGT GAG TGT TAT GAC GCC GGC C C A
J1 HCV1	227	Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala TGT GCT TGG TAT GAG CTC ACG CCC GCT C
J1 HCV1	254	Glu Thr Ser Val Arg Leu Arg Ala Tyr GAG ACC TCG GTT AGG TTG CGG GCT TAC T A A C A A G Thr
J1 HCV1	281	Leu Asn Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys CTA AAT ACA CCA GGG TTG CCC GTC TGC A G C C G C T G Met
J1 HCV1	308	Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu Ser CAG GAC CAT CTC GAG TTC TCG GAG AGC T A T G Gly
J1 HCV1	335	Val Phe Thr Gly Leu Thr His Ile Asp GTC TTC ACA GGC CTC ACC CAC ATA GAC T T T
J1 HCV1	362	Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln GCC CAC TTC TTG TCC CAG ACT AAG CAG T C A A
J1 HCV1	389	Ala Gly Asp Asn Phe Pro Tyr Leu Val CCA GGA GAC AAC TTC CCC TAC CTG GTA AGT G G C T T Ser Glu Leu



## 【図29】

HCV-1

-267 GCGTCTAGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTCTGTCAGCCTCCAGG  
CGCAGATCGGTACCGCAATCATACTCACAGCACGTGGAGGTCC

-223 ACCCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGTGA  
TGGGGGGGAGGGCCCTCTCGGTATCACCAGACGCTTGGCCACT

-179 GTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCTTTCTTGGATCAA  
CATGTGGCCTTAACGGTCTGTGGCCAGGAAGAACCTAGTT

-135 CCGGCTCAATGCCTGGAGATTTCGGCGTCCCCCGCAAGACTGC  
GGGCGAGTTACGGACCTCTAAACCCGACGGGGCGTTCTGACC

-91 TAGCCGAGTAGTGTGGGTGCGGAAAGGCCTTGTGGTACTGCCT  
ATCGGCTCATCACAACCCAGCGCTTTCGGAACACCATGACCGA

-47 GATAGGGTGCTTGGAGTGCCCGGGAGGTCTCGTAGACCGTGC  
CTATCCACGAACGCTCACGGGGCCCTCCAGAGCATCTGGCAGC

-3 ACC -1  
TGG

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Lys Lys Asn  
1 ATC AGC ACG AAT CCT AAA CCT CAA AAA AAA AAC  
TAC TCG TGC TTA GGA TTT GGA GTT TTT TTT TTG

Lys Arg Asn Thr Asn Arg Arg Pro Gln Asp Val  
34 AAA CGT AAC ACC AAC CGT CGC CCA CAG GAC GTC  
TTT GCA TTG TGG TTG GCA GCG GGT GTC CTG CAG

Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly Gly  
67- AAG TTC CCG GGT GGC GGT CAG ATC GTT GGT GGA  
TTC AAG GGC CCA CCG CCA GTC TAG CAA CCA CCT

## 【図30】

100 Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu  
GTT TAC TTC TTG CCG CGC AGG GGC CCT AGA TTG  
CAA ATG AAC AAC GGC GCG TCC CCG GGA TCT AAC

133 Gly Val Arg Ala Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg  
GGT GTG CGC GCG ACG AGA AAG ACT TCC GAG CGG  
CCA CAC GCG CGC TGC TCT TTC TGA AGG CTC GCC

166 Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro Ile Pro  
TCG CAA CCT CGA GGT AGA CGT CAG CCT ATC CCC  
AGC GTT GGA GCT CCA TCT GCA GTC GGA TAG GGG

199 Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp Ala  
AAG GCT CGT CGG CCC GAG GGC AGG ACC TGG GCT  
TTC CGA GCA GCC GGG CTC CCG TCC TGG ACC CGA

232 Gln Pro Gly Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn  
CAG CCC GGC TAC CCT TGG CCC CTC TAT GGC AAT  
GTC GGG CCC ATG GGA ACC GGG GAG ATA CCG TTA

265 Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp Leu Leu Ser  
GAG GGC TGC GGG TCG CCG GGA TCG CTC CTC TCT  
CTC CCG ACG CCC ACC CGC CCT ACC GAG GAC AGA

298 Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr  
CCC CGT GGC TCT CCG CCT AGC TGG GGC CCC ACA  
GGG GCA CCG AGA GCC GGA TCG ACC CCG GGG TGT

331 Asp Pro Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys  
GAC CCC CGG CGT AGG TCG CGC AAT TTG GGT AAG  
CTG GGG GCC GCA TCC AGC GCG TTA AAC CCA TTC

364 Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys Gly Phe Ala Asp  
GTC ATC GAT ACC CTT ACG TCG GGC TTC CCC GAC  
CAG TAG CTA TGG GAA TGC ACC CCG AAG CCG CTG

## 【図31】

397 Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro  
 CTC ATG GGG TAC ATA CCG CTC GTC GGC GCC CCT  
 GAG TAC CCC ATG TAT GGC GAG CAG CCG CGG GGA  
  
 430 Leu Gly Gly Ala Ala Arg Ala Leu Ala His Gly  
 CTT GGA GGC GCT GCC AGG GCC CTG GCG CAT GGC  
 GAA CCT CCC CGA CCG TCC CCG GAC CCG GTA CCG  
  
 463 Val Arg Val Leu Glu Asp Gly Val Asn Tyr Ala  
 GTC CGG GTT CTG GAA GAC GGC GTG AAC TAT GCA  
 CAG GCC CAA GAC CTT CTG CCG CAC TTG ATA CGT  
  
 496 Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile  
 ACA GGG AAC CTT CCT GGT TGC TCT TTC TCT ATC  
 TGT CCC TTG GAA GGA CCA ACG AGA AAG AGA TAG  
  
 529 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Val  
 TTC CTT CTG GCC CTG CTC TCT TGC TTG ACT GTG  
 AAG GAA GAC CCG GAC GAG AGA ACG AAC TGA CAC  
  
 562 Pro Ala Ser Ala Tyr Gln Val Arg Asn Ser Thr  
 CCC GCT TCG GCC TAC CAA GTG CCG AAC TCC ACG  
 GGG CGA AGC CCG ATG GTT CAC GCG TTG AGG TGC  
  
 595 Gly Leu Tyr His Val Thr Asn Asp Cys Pro Asn  
 GGG CTT TAC CAC GTC ACC AAT GAT TGC CCT AAC  
 CCC GAA ATG GTG CAG TGG TTA CTA ACG GGA TTG  
  
 628 Ser Ser Ile Val Tyr Glu Ala Ala Asp Ala Ile  
 TCG AGT ATT GTG TAC GAG GCG GCC GAT GCC ATC  
 AGC TCA TAA CAC ATG CTC CGC CCG CTA CGG TAG  
  
 661 Leu His Thr Pro Gly Cys Val Pro Cys Val Arg  
 CTG CAC ACT CCG GGG TGC GTC CCT TGC GTT CGT  
 GAC GTG TGA GGC CCC ACG CAG GGA ACG CAA GCA

## 【図32】

694 Glu Gly Asn Ala Ser Arg Cys Trp Val Ala Met  
 GAG GGC AAC GCC TCG AGG TGT TGG GTG GCG ATG  
 CTC CCG TTG CCG AGC TCC ACA ACC CAC CGC TAC  
  
 727 Thr Pro Thr Val Ala Thr Arg Asp Gly Lys Leu  
 ACC CCT ACG GTG GCC ACC AGG GAT GGC AAA CTC  
 TCG GGA TGC CAC CCG TCC TCC CTA CCG TTT GAG  
  
 760 Pro Ala Thr Gln Leu Arg Arg His Ile Asp Leu  
 CCC GCG ACG CAG CTT CGA CGT CAC ATC GAT CTG  
 GCG CCG TGC GTC GAA GCT GCA GTG TAG CTA GAC  
  
 793 Leu Val Gly Ser Ala Thr Leu Cys Ser Ala Leu  
 CTT GTC GGG AGC GCC ACC CTC TGT TCG GCC CTC  
 GAA CAG CCC TCG CCG TGG GAG ACA AGC CCG GAG  
  
 826 Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly Ser Val Phe Leu  
 TAC GTG GGG GAC CTA TGC GGG TCT GTC TTT CTT  
 ATG CAC CCC CTG GAT ACG CCC AGA CAG AAA GAA  
  
 859 Val Gly Gln Leu Phe Thr Phe Ser Pro Arg Arg  
 GTC GGC CAA CTG TTC ACC TTC TCT CCC AGG CGC  
 CAG CCG GTT GAC AAG TGG AAG AGA GGG TCC GCG  
  
 892 His Trp Thr Thr Gln Gly Cys Asn Cys Ser Ile  
 CAC TGG ACG ACG CAA GGT TGC AAT TGC TCT ATC  
 GTG ACC TGC TGC GTT CCA ACG TTA ACG AGA TAG  
  
 925 Tyr Pro Gly His Ile Thr Gly His Arg Met Ala  
 TAT CCC GGC CAT ATA ACG GGT CAC CGC ATG GCA  
 ATA GGG CCG GTA TAT TGC CCA GTG CCG TAC CGT  
  
 958 Trp Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Thr  
 TCG GAT ATG ATG ATG AAC TGG TCC CCT ACG ACG  
 ACC CTA TAC TAC TAC TTG ACC AGG GGA TGC TGC



## 【図33】

991 Ala Leu Val Met Ala Gln Leu Leu Arg Ile Pro  
 GCG TTG GTA ATG GCT CAG CTG CTC CGG ATC CCA  
 CGC AAC CAT TAC CGA GTC GAC GAG GCC TAG GGT  
  
 1024 Gln Ala Ile Leu Asp Met Ile Ala Gly Ala His  
 CAA GCC ATC TTG GAC ATG ATC GCT GGT GCT CAC  
 GTT CCG TAG AAC CTG TAC TAG CGA CCA CGA GTG  
  
 1057 Trp Gly Val Leu Ala Gly Ile Ala Tyr Phe Ser  
 TGG GGA GTC CTG GCG GGC ATA GCG TAT TTC TCC  
 ACC CCT CAG GAC CGC CCG TAT CGC ATA AAG AGG  
  
 1090 Met Val Gly Asn Trp Ala Lys Val Leu Val Val  
 ATG GTG GGG AAC TGG GCG AAG GTC CTG GTA GTG  
 TAC CAC CCC TTG ACC CGC TTC CAG GAC CAT CAC  
  
 1123 Leu Leu Leu Phe Ala Gly Val Asp Ala Glu Thr  
 CTG CTG CTA TTT GCC GGC GTC GAC GCG GAA ACC  
 GAC GAC GAT AAA CCG CCG CAG CTG CGC CTT TGG  
  
 1156 His Val Thr Gly Gly Ser Ala Gly His Thr Val  
 CAC GTC ACC GGG GGA AGT GCC GGC CAC ACT GTG  
 GTG CAG TGG CCC CCT TCA CCG CCG GTG TGA CAC  
  
 1189 Ser Gly Phe Val Ser Leu Leu Ala Pro Gly Ala  
 TCT GGA TTT GTT AGC CTC CTC GCA CCA GGC GCC  
 AGA CCT AAA CAA TCG GAG GAG CGT GGT CCG CGG  
  
 1222 Lys Gln Asn Val Gln Leu Ile Asn Thr Asn Gly  
 AAG CAG AAC GTC CAG CTG ATC AAC ACC AAC GGC  
 TTC GTC TTG CAG GTC GAC TAG TTC TCG TTG CCG  
  
 1255 Ser Trp His Leu Asn Ser Thr Ala Leu Asn Cys  
 AGT TGG CAC CTC AAT AGC ACG GCC CTG AAC TGC  
 TCA ACC GTC GAG TTA TCG TGC CCG GAC TTG ACC

## 【図34】

1288 Asn Asp Ser Leu Asn Thr Gly Trp Leu Ala Gly  
 AAT GAT AGC CTC AAC ACC GGC TGG TTG GCA GGG  
 TTA CTA TCG GAG TTG TGG CCG ACC AAC CGT CCC  
  
 1321 Leu Phe Tyr His His Lys Phe Asn Ser Ser Gly  
 TTT TCT ATC ACC ACA AGT TCA ACT CTT CAG GCT  
 GAA AAG ATA GTG GTG TTC AAG TTG AGA AGT CCG  
  
 1354 Cys Pro Glu Arg Leu Ala Ser Cys Arg Pro Leu  
 GTC CTG AGA GCG TAG CCA GCT GCC GAC CCC CTT  
 ACA GGA CTC TCC GAT CCG TCG ACG GCT GGG GAA  
  
 1387 Thr Asp Phe Asp Gln Gly Trp Gly Pro Ile Ser  
 ACC GAT TTT GAC CAG GGC TGG GGC CCT ATC AGT  
 TGG CTA AAA CTG GTC CCG ACC CCG GGA TAG TCA  
  
 1420 Tyr Ala Asn Gly Ser Gly Pro Asp Gln Arg Pro  
 TAT GCC AAC GGA AGC GGC CCC GAC CAG CGC CCC  
 ATA CCG TTG CCT TCG CCG GCG CTG GTC GCG GGG  
  
 1453 Tyr Cys Trp His Tyr Pro Pro Lys Pro Cys Gly  
 TAC TGC TGG CAC TAC CCC CCA AAA CCT TGC GGT  
 ATG ACG ACC GTG ATG GGG GOT TTT GGA ACG CCA  
  
 1486 Ile Val Pro Ala Lys Ser Val Cys Gly Pro Val  
 ATT GTG CCC GCG AAG AGT GTG TGT GGT CCG GTA  
 TAA CAC GCG CGC TTC TCA CAC ACA CCA GGC CAT  
  
 1519 Tyr Cys Phe Thr Pro Ser Pro Val Val Val Gly  
 TAT TGC TTC ACT CCC AGC CCC GTG CTG GTC GCA  
 ATA ACG AAG TGA GCG TCG GCG CAC CAC CAC CCT  
  
 1552 Thr Thr Asp Arg Ser Gly Ala Pro Thr Tyr Ser  
 ACG ACC GAC AGG TCG GGC GCG CCC ACC TAC AGC  
 TGC TCG CTG TCC AGC CCG CCG GGG TGG ATG TCG

## 【図35】

1585 Trp Gly Glu Asn Asp Thr Asp Val Phe Val Leu  
TGG CGT GAA AAT GAT ACG GAC GTC TTC GTC CTT  
ACC CCA CTT TTA CTA TGC CTG CAG AAG CAG GAA

1618 Asn Asn Thr Arg Pro Pro Leu Gly Asn Trp Phe  
AAC AAT ACC AGG CCA CCG CTG GGC AAT TGG TTC  
TTG TTA TGG TCC GGT GGC GAC CCG TTA ACC AAG

1651 Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr Gly Phe Thr  
GGT TGT ACC TGG ATG AAC TCA ACT GGA TTC ACC  
CCA ACA TGG ACC TAC TTG AGT TGA CCT AAG TGG

1684 Lys Val Cys Gly Ala Pro Pro Cys Val Ile Gly  
AAA GTG TGC GGA GCG CCT CCT TGT GTC ATC GGA  
TTT CAC ACG CCT CGC GGA GGA ACA CAG TAG CCT

1717 Gly Ala Gly Asn Asn Thr Leu His Cys Pro Thr  
GGG GCG GGC AAC AAC ACC CTG CAC TGC CCC ACT  
CCC CGC CCG TTG TTG TGC GAC GTG ACG GGG TGA

1750 Asp Cys Phe Arg Lys His Pro Asp Ala Thr Tyr  
GAT TGC TTC CGC AAG CAT CCG GAC GCC ACA TAC  
CTA ACG AAG GCG TTC GTA GGC CTG CCG TGT ATG

1783 Ser Arg Cys Gly Ser Gly Pro Trp Ile Thr Pro  
TCT CCG TGC GGC TCC GGT CCC TGG ATC ACA CCC  
AGA GCC ACG CCG AGG CCA GGG ACC TAG TGT GGG

1816 Arg Cys Leu Val Asp Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp  
AGG TGC CTC GTC GAC TAC CCG TAT ACG CTT TCG  
TCC ACG GAC CAG CTG ATG GGC ATA TCC GAA ACC

1849 His Tyr Pro Cys Thr Ile Asn Tyr Thr Ile Phe  
CAT TAT CCT TGT ACC ATC AAC TAC ACC ATA TTT  
GTA ATA GGA ACA TGG TAC TTG ATG TGG TAT AAA

## 【図36】

1882 Lys Ile Arg Met Tyr Val Gly Gly Val Glu His  
AAA ATC ACG ATG TAC GTG GGA GGG GTC GAA CAC  
TTT TAG TCC TAC ATG CAC CCT CCC CAG CTT GTG

1915 Arg Leu Glu Ala Ala Cys Asn Trp Thr Arg Gly  
AGG CTG GAA GCT GCC TGC AAC TGG ACC CGG GGC  
TCC GAC CTT CGA CCG ACG TTG ACC TGC GCC CCG

1948 Glu Arg Cys Asp Leu Glu Asp Arg Asp Arg Ser  
GAA CGT TGC GAT CTG GAA GAC ACG CAC ACC TCC  
CTT GCA ACG CTA GAC CTT CTG TCC CTG TCC AGG

1981 Glu Leu Ser Pro Leu Leu Leu Thr Thr Thr Gln  
GAG CTC AGC CCG TTA CTG CTG ACC ACT ACA CAG  
CTC GAG TCG GGC AAT GAC GAC TGG TGA TGT GTC

2014 Trp Gln Val Leu Pro Cys Ser Phe Thr Thr Leu  
TGG CAG GTC CTC CCG TGT TCC TTC ACA ACC CTA  
ACC GTC CAG GAG GGC ACA AGG AAG TGT TGG GAT

2047 Pro Ala Leu Ser Thr Gly Leu Ile His Leu His  
CCA GCC TTG TCC ACC GGC CTC ATC CAC CTC CAC  
GGT CCG AAC AGG TGG CCG GAG TAG GTG GAG GTG

2080 Gln Asn Ile Val Asp Val Gln Tyr Leu Tyr Gly  
CAG AAC ATT GTG GAC GTG CAG TAC TTG TAC GGG  
GTC TTG TAA CAC CTG CAC GTC ATG AAC ATG CCC

2113 Val Gly Ser Ser Ile Ala Ser Trp Ala Ile Lys  
GTG GGG TCA AGC ATC GCG TCC TGG GCC ATT AAG  
CAC CCC AGT TCG TAG CCG AGG ACC CGG TAA TTC

2146 Trp Glu Tyr Val Val Leu Leu Phe Leu Leu Leu  
TGG GAG TAC GTC GTT CTC CTG TTC CTT CTG CTT  
ACC CTC ATG CAG CAA GAG GAC AAG GAA GAC GAA

## 【図37】

2179 Ala Asp Ala Arg Val Cys Ser Cys Leu Trp Met  
GCA GAC GCG CGC GTC TGC TCC TGC TTG TGG ATG  
CGT CTG CGC GCG CAG ACG AGG ACG AAC ACC TAC

2212 Met Leu Leu Ile Ser Gln Ala Glu Ala Ala Leu  
ATG CTA CTC ATA TCC CAA GCG GAG GCG GCT TTG  
TAC GAT GAG TAT AGG GTT CGC CTC CGC CGA AAC

2245 Glu Asn Leu Val Ile Leu Asn Ala Ala Ser Leu  
GAG AAC CTC GTA ATA CTT AAT GCA GCA TCC CTC  
CTC TTG GAG CAT TAT GAA TTA CGT CGT AGG GAC

2278 Ala Gly Thr His Gly Leu Val Ser Phe Leu Val  
GCC GGG ACG CAC GGT CTT GTA TCC TTC CTC GTG  
CGG CCC TGC GTG CCA GAA CAT AGG AAG GAG CAC

2311 Phe Phe Cys Phe Ala Trp Tyr Leu Lys Gly Lys  
TTC TTC TGC TTT GCA TGG TAT TTG AAG GGT AAG  
AAG AAG ACG AAA CGT ACC ATA AAC TTC CCA TTC

2344 Trp Val Pro Gly Ala Val Tyr Thr Phe Tyr Gly  
TGG CTG CCC GGA GCG GTC TAC ACC TTC TAC GGG  
ACC CAC CGG CCT CGC CAG ATG TCG AAG ATG CCC

2377 Met Trp Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Leu  
ATG TGG CCT CTC CTC CTG CTC CTG TTG GCG TTG  
TAC ACC GGA GAG GAG GAC GAG GAC AAC CGC AAC

2410 Pro Gln Arg Ala Tyr Ala Leu Asp Thr Glu Val  
CCC CAG CGG GCG TAC GCG CTG GAC ACG GAG GTG  
GGG GTC GCC CGC ATG CGC GAC CTG TGC CTC CAC

2443 Ala Ala Ser Cys Gly Gly Val Val Leu Val Gly  
GCC GCG TCG TGT GGC GGT GTT GTT CTC GTC GGG  
CGG CGC ACG ACA CCG CCA CAA CAA GAG CAG CCC

## 【図38】

2476 Leu Met Ala Leu Thr Leu Ser Pro Tyr Tyr Lys  
TTG ATG GCG CTG ACT CTG TCA CCA TAT TAC AAG  
AAC TAC CGC GAC TGA GAC AGT GGT ATA ATC TTC

2509 Arg Tyr Ile Ser Trp Cys Leu Trp Trp Leu Gln  
CGC TAT ATC AGC TGG TGC TTG TGG TGG CTT CAG  
CGG ATA TAG TCG ACC ACG AAC ACC ACC GAA GTC

2542 Tyr Phe Leu Thr Arg Val Glu Ala Gln Leu His  
TAT TTT CTG ACC AGA GTG GAA CCG CAA CTG CAC  
ATA AAA GAC TGG TCT CAC CTT CGC GTT GAC GTG

2575 Val Trp Ile Pro Pro Leu Asn Val Arg Gly Gly  
GTG TGG ATT CCC CCC CTC AAC GTC CGA GGG GGG  
CAC ACC TAA GGG GGG GAG TTG CAG GCT CCC CCC

2608 Arg Asp Ala Val Ile Leu Leu Met Cys Ala Val  
CGC GAC GCC GTC ATC TTA CTC ATG TGT GGT GTA  
CGG CTG CGC CAG TAG AAT GAG TAC ACA CGA CAT

2641 His Pro Thr Leu Val Phe Asp Ile Thr Lys Leu  
CAC CCG ACT CTG GTA TTT GAC ATC ACC AAA TTG  
GTG GGC TGA GAC CAT AAA CTG TAG TGC TTT AAC

2674 Leu Leu Ala Val Phe Gly Pro Leu Trp Ile Leu  
CTG CTG GCC GTC TTC GGA CCC CTT TGG ATT CTT  
GAC GAC CGG CAG AAG CCT GGG GAA ACC TAA GAA

2707 Gln Ala Ser Leu Leu Lys Val Pro Tyr Phe Val  
CAA GCC AGT TTG CTT AAA GTA CCC TAC TTT GTG  
GTT CGG TCA AAC GAA TTT CAT GGG ATG AAA CAC

2740 Arg Val Gln Gly Leu Leu Arg Phe Cys Ala Leu  
CGC GTC CAA GGC CTT CTC CGG TTC TGC CGC TTA  
CGG CAG GTT CCG GAA GAG GCC AAG ACC CGC AAT

## 【図39】

2773 Ala Arg Lys Met Ile Gly Gly His Tyr Val Gln  
 GCG CGG AAG ATG ATC GGA GGC CAT TAC GTG CAA  
 CGC GCC TTC TAC TAG CCT CCG GTA ATG CAC GTT

2806 Met Val Ile Ile Lys Leu Gly Ala Leu Thr Gly  
 ATG CTC ATC ATT AAG TTA GGG GCG CTT ACT GGC  
 TAC CAG TAG TAA TTC AAT CCC CGC GAA TGA CCG

2839 Thr Tyr Val Tyr Asn His Leu Thr Pro Leu Arg  
 ACC TAT GTT TAT AAC CAT CTC ACT CCT CTT CCG  
 TGG ATA CAA ATA TTG GTA GAG TGA GGA GAA GCC

2872 Asp Trp Ala His Asn Gly Leu Arg Asp Leu Ala  
 GAC TCG GCG CAC AAC GGC TTG CGA GAT CTG GCC  
 CTG ACC CGC GTG TTG CCG AAC GCT CTA GAC CCG

2905 Val Ala Val Glu Pro Val Val Phe Ser Gln Met  
 CTG GCT GTA GAC CCA CTC GTC TTC TCC CAA ATG  
 CAC CGA CAT CTC GGT CAG CAG AAG AGG GTT TAC

2938 Glu Thr Lys Leu Ile Thr Trp Gly Ala Asp Thr  
 GAG ACC AAG CTC ATC ACG TGG GGG GCA GAT ACC  
 CTC TGG TTC GAG TAG TGC ACC CCC CGT CTA TGG

2971 Ala Ala Cys Gly Asp Ile Ile Asn Gly Leu Pro  
 GCC GCG TGC GGT GAC ATC ATC AAC GGC TTG CCT  
 CGG CGC ACG CCA CTG TAG TAG TTG CCG AAC GGA

3004 Val Ser Ala Arg Arg Gly Arg Glu Ile Leu Leu  
 GTT TCC GCC CGC AGG GGC CCG GAG ATA CTG CTC  
 CAA AGG CGG GCG TCC CCG GCC CTC TAT GAC GAG

3037 Gly Pro Ala Asp Gly Met Val Ser Lys Gly Trp  
 GGG CCA GCC GAT GGA ATG GTC TCC AAG GCG TGG  
 CCC GGT CGG CTA CCT TAC CAG AGG TTC CCC ACC

## 【図40】

3070 Arg Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ala Gln  
 AGG TTG CTG GCG CCC ATC ACC GCG TAC GCC CAG  
 TCC AAC GAC CGC GGG TAG TGC CGC ATG CCG GTC

3103 Gln Thr Arg Gly Leu Leu Gly Cys Ile Ile Thr  
 CAG ACA ACG GGC CTC CTA GGG TGC ATA ATC ACC  
 GTC TGT TCC CCG GAG GAT CCC ACG TAT TAG TGG

3136 Ser Leu Thr Gly Arg Asp Lys Asn Gln Val Glu  
 AGC CTA ACT GCG CCG GAC AAA AAC CAA GTG GAG  
 TCG GAT TGA CCG GCC CTG TTT TTG GTT CAC CTC

3169 Gly Glu Val Gln Ile Val Ser Thr Ala Ala Gln  
 GGT GAG CTC CAG ATT GTG TCA ACT GCT GCC CAA  
 CCA CTC CAG GTC TAA CAC AGT TGA CGA CCG GTT

3202 Thr Phe Leu Ala Thr Cys Ile Asn Gly Val Cys  
 ACC TTC CTG GCA ACG TGC ATC AAT GGG GTC TGC  
 TGG AAG CAC CGT TGC ACG TAG TTA CCC CAC ACG

3235 Trp Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Thr Arg Thr  
 TGG ACT GTC TAC CAC GGG GCC GGA ACG AGG ACC  
 ACC TGA CAG ATG GTC CCC CCG CCT TGC TCC TGG

3268 Ile Ala Ser Pro Lys Gly Pro Val Ile Gln Met  
 ATC GCG TCA CCC AAG GGT CCT GTC ATC CAG ATG  
 TAG CGC AGT GGG TTC CCA GGA CAG TAG GTC TAC

3301 Tyr Thr Asn Val Asp Gln Asp Leu Val Gly Trp  
 TAT ACC AAT GTA GAC CAA GAC CTT GTG GGC TGG  
 ATA TGG TTA CAT CTG GTT CTG CAA CAC CCG ACC

3334 Pro Ala Pro Gln Gly Ser Arg Ser Leu Thr Pro  
 CCC GCT CCG CAA GGT AGC CGC TCA TTG ACA CCC  
 GGG CGA GGC GTT CCA TCG CCG AGT AAC TGT GGG



## 【図41】

3367 Cys Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Tyr Leu Val  
TGC ACT TGC GGC TCC TCG GAC CTT TAC CTG GTC  
ACG TGA ACG CCG AGG AGC CTG GAA ATG GAC CAG

3400 Thr Arg His Ala Asp Val Ile Pro Val Arg Arg  
ACG AGG CAC GCC GAT GTC ATT CCC GTG CCG CCG  
TGC TCC CTC CCG CTA CAG TAA GGG CAC GCG GCC

3433 Arg Gly Asp Ser Arg Gly Ser Leu Leu Ser Pro  
CGG GGT GAT AGC AGG GGC ACC CTC CTC TCG CCC  
GCC CCA CTA TCG TCC CCG TCG GAC GAC AGC GGG

3466 Arg Pro Ile Ser Tyr Leu Lys Gly Ser Ser Gly  
CGG CCC ATT TCC TAC TTG AAA GGC TCC TCG GGG  
GCC GGG TAA AGG ATG AAC TTT CCG AGG AGC CCC

3499 Gly Pro Leu Leu Cys Pro Ala Gly His Ala Val  
GGT CCG CTC TTG TGC CCC GCG GGG CAC GCC GTG  
CCA GGC GAC AAC ACG GGG GCG CCC GTG CCG CAC

3532 Gly Ile Phe Arg Ala Ala Val Cys Thr Arg Gly  
GGC ATA TTT AGG GCC GCG GTG TGC ACC CGT GGA  
CCG TAT AAA TCC CCG CCG CAC ACG TGG GCA CCT

3565 Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Ile Pro Val Glu  
GTG GCT AAG GCG GTG GAC TTT ATC CCT GTG GAG  
CAC CGA TTC CCG CAC CTC AAA TAG GGA CAC CTC

3598 Asn Leu Glu Thr Thr Met Arg Ser Pro Val Phe  
AAC CTA GAG ACA ACC ATG AGG TCC CCG GTG TTC  
TTG GAT CTC TGT TGG TAC TCC AGG GGC CAC AAG

3631 Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro Val Val Pro Gln  
ACG GAT AAC TCC TCT CCA CCA GTA GTG CCC CAG  
TGC CTA TTG ACG ACA GGT GGT CAT CAC GGG GTC

## 【図42】

3664 Ser Phe Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr  
AGC TTC CAG GTG GCT CAC CTC CAT GCT CCC ACA  
TCG AAG GTC CAC CGA GTG GAG GTA CGA GGG TGT

3697 Gly Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala  
GGC AGC GGC AAA AGC ACC AAG GTC CCG GCT GCA  
CCG TCG CCG TTT TCG TCG TTC CAG GGC CGA CGT

3730 Tyr Ala Ala Gln Gly Tyr Lys Val Leu Val Leu  
TAT GCA GCT CAG GGC TAT AAG GTG CTA GTA CTC  
ATA CGT CGA GTC CCG ATA TTC CAC GAT CAT GAG

3763 Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly Phe Gly  
AAC CCC TCT GTT GCT GCA ACA CTG GGC TTT GGT  
TTG GCG AGA CAA CGA CGT TGT GAC CCG AAA CCA

3796 Ala Tyr Met Ser Lys Ala His Gly Ile Asp Pro  
GCT TAC ATG TCC AAG GCT CAT GGG ATC GAT CCT  
CGA ATG TAC AGG TTC CGA GTA CCC TAG CTA GGA

3829 Asn Ile Arg Thr Gly Val Arg Thr Ile Thr Thr  
AAC ATC AGG ACC GGC GTG AGA ACA ATT ACC ACT  
TTG TAG TCC TCG CCC CAC TCT TGT TAA TGG TGA

3862 Gly Ser Pro Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Lys  
GGC AGC CCC ATC ACG TAC TCC ACC TAC GGC AAG  
CCG TCG GGG TAG TGC ATG AGG TGG ATG CCG TTC

3895 Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly Ala  
TTC CTT GCC GAC GGC GGG TGC TCG CCG GGC GCT  
AAG GAA CCG CTG CCG CCC ACG AGC CCC CCG CGA

3928 Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys His Ser  
TAT GAC ATA ATA ATT TGT GAC GAG TGC CAC TCC  
ATA CTG TAT TAT TAA ACA CTC CTC ACG GTG AGG

## 【図59】

8713 Val Ala Ala Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val Pro  
GTG GCC GCA TGC CTC AGA AAA CTT GGG GTA CCG  
CAC CCG CGT ACG GAG TCT TTT GAA CCC CAT GGC

8746 Pro Leu Arg Ala Trp Arg His Arg Ala Arg Ser  
CCC TTC CGA GCT TGG AGA CAC CCG GCC CCG AGC  
GGG AAC GCT CGA ACC TCT GTG GCC CCG GCC TCG

8779 Val Arg Ala Arg Leu Leu Ala Arg Gly Gly Arg  
GTC CCG GCT AGG CTT CTC GCC ACA GGA GGC AGG  
CAG CCG CGA TCC GAA GAC CCG TCT CCT CCG TCC

8812 Ala Ala Ile Cys Gly Lys Tyr Leu Phe Asn Trp  
GCT GCC ATA TGT GGC AAG TAC CTC TTC AAC TGG  
CGA CCG TAT ACA CCG TTC ATG GAG AAG TTC ACC

8845 Ala Val Arg Thr Lys Leu Lys  
CCA GTA AGA ACA AAG CTC AAA C  
CGT CAT TCT TGT TTC GAG TTT G

## 【図43】

3961 Thr Asp Ala Thr Ser Ile Leu Gly Ile Gly Thr  
ACG GAT CCC ACA TCC ATC TTG GGC ATC GGC ACT  
TGC CTA CGG TGT AGG TAG AAC CCG TAG CCG TGA

3994 Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr Ala Gly Ala Arg  
GTC CTT GAC CAA GCA GAG ACT GCG GGG GCG AGA  
CAG GAA CTG GTT CGT CTC TGA CGC CCC CCG TCT

4027 Leu Val Val Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly  
CTG GTT GTG CTC GCC ACC GCC ACC CCT CCG GGC  
GAC CAA CAC GAG CCG TCG CCG TGG GGA GGC CCG

4060 Ser Val Thr Val Pro His Pro Asn Ile Glu Glu  
TCC GTC ACT GTG CCC CAT CCC AAC ATC GAG GAG  
AGG CAG TCA CAC GGG GTA GGG TTG TAG CTC CTC

4093 Val Ala Leu Ser Thr Thr Gly Glu Ile Pro Phe  
GTT GCT CTG TCC ACC ACC GGA GAG ATC CCT TTT  
CAA CGA GAC AGG TCG TCG CCT CTC TAG GGA AAA

4126 Tyr Gly Lys Ala Ile Pro Leu Glu Val Ile Lys  
TAC GGC AAG GCT ATC CCC CTC GAA GTA ATC AAG  
ATG CCG TTC CGA TAG GGG GAG CTT CAT TAG TTC

4159 Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys His Ser Lys  
GGG GGG AGA CAT CTC ATC TTC TGT CAT TCA AAG  
CCC CCC TCT GTA GAG TAG AAG ACA GTA AGT TTC

4192 Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Lys Leu Val  
AAG AAG TGC GAC GAA CTC GCC GCA AAG CTG GTC  
TTC TTC ACG CTG CTT GAG CCG CGT TTC GAC CAG

4225 Ala Leu Gly Ile Asn Ala Val Ala Tyr Tyr Arg  
GCA TTG GGC ATC AAT GCC GTG GCC TAC TAC CCG  
CGT AAC CCG TAG TTA CCG CAC CCG ATG ATG GCG

## 【図44】

4258 Gly Leu Asp Val Ser Val Ile Pro Thr Ser Gly  
CGT CTT GAC GTG TCC GTC ATC CCG ACC AGC GGC  
CCA GAA CTC CAC AGG CAG TAG GGC TGG TCG CCG

4291 Asp Val Val Val Val Ala Thr Asp Ala Leu Met  
GAT GTT CTC CTC CTC GCA ACC GAT GCC CTC ATC  
CTA CAA CAG CAG CAC CGT TGG CTA CCG GAG TAC

4324 Thr Gly Tyr Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile  
ACC GGC TAT ACC GGC GAC TTC GAC TCG GTG ATA  
TGG CCG ATA TGG CCG CTC AAG CTG AGC CAC TAT

4357 Asp Cys Asn Thr Cys Val Thr Gln Thr Val Asp  
GAC TGC AAT ACG TGT GTC ACC CAG ACA GTC GAT  
CTG ACG TTA TGC ACA CAG TGG GTC TGT CAG CTA

4390 Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Thr Ile Glu Thr  
TTC AGC CTT GAC CCT ACC TTC ACC ATT GAG ACA  
AAG TCG GAA CTC GGA TCG AAG TGG TAA CTC TGT

4423 Ile Thr Leu Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Thr  
ATC ACG CTC CCC CAG GAT GCT GTC TCC CCG ACT  
TAG TCC CAG GGG GTC CTA CGA CAG AGG GCG TCA

4456 Gln Arg Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Lys Pro  
CAA CGT CCG GGC AGG ACT GGC ACG GCG AAG CCA  
GTT GCA GCC CCG TCC TCA CCG TCC CCC TTC GGT

4489 Gly Ile Tyr Arg Phe Val Ala Pro Gly Glu Arg  
GGC ATC TAC AGA TTT GTG GCA CCG GGG GAG CCG  
CCG TAG ATG TCT AAA CAC CGT GGC CCC CTC CCG

4522 Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys  
CCC TCC GGC ATG TTC GAC TCG TCC GTC CTC TGT  
GGG AGC CCG TAC AAG CTG ACG AGG CAG GAG ACA

## 【図45】

4555 Glu Cys Tyr Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu  
GAG TGC TAT GAC GCA GGC TGT GCT TGG TAT GAG  
CTC ACC ATA CTG CGT CCG ACA CGA ACC ATA CTC

4588 Leu Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Arg Leu Arg  
CTC ACC CCC GCC GAG ACT ACA GTT AGG CTA CGA  
GAG TGC GGG CCG CTC TGA TGT CAA TCC GAT GCT

4621 Ala Tyr Met Asn Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys  
CGC TAC ATG AAC ACC CCG GGG CTT CCC GTG TGC  
CGC ATG TAC TTG TGG GGC CCC GAA GGG CAC ACC

4654 Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu Gly Val Phe  
CAG GAC CAT CTT GAA TTT TGG GAG GGC GTC TTT  
GTC CTG GTA GAA CTT AAA ACC CTC CCG CAG AAA

4687 Thr Gly Leu Thr His Ile Asp Ala His Phe Leu  
ACA GGC CTC ACT CAT ATA GAT GCC CAC TTT CTA  
TGT CCG GAG TGA GTA TAT CTA CCG CTC AAA GAT

4720 Ser Gln Thr Lys Gln Ser Gly Glu Asn Leu Pro  
TCC CAG ACA AAG CAG AGT GGG GAG AAC CTT CCT  
AGG GTC TGT TTC CTC TCA CCC CTC TTG GAA GGA

4753 Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val Cys Ala  
TAC CTG GTA GCG TAC CAA GCC ACC GTG TGC GCT  
ATG GAC CAT CGC ATG GTT CCG TGG CAC ACC CGA

4786 Arg Ala Gln Ala Pro Pro Pro Ser Trp Asp Gln  
AGG GCT CAA GCC CCT CCC CCA TCG TGG GAC CAG  
TCC CGA GTT CCG GGA GGG GGT AGC ACC CTC GTC

4819 Met Trp Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr  
ATG TCG AAG TGT TTG ATT CGC CTC AAG CCC ACC  
TAC ACC TTC ACA AAC TAA CCC GAG TTC GGG TGG

## 【図46】

4852 Leu His Gly Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu  
CTC CAT GGG CCA ACA CCC CTG CTA TAC AGA CTG  
GAG GTA CCC GGT TGT GGG CAC GAT ATG TCT GAC

4885 Gly Ala Val Gln Asn Glu Ile Thr Leu Thr His  
GGC GCT GTT CAG AAT GAA ATC ACC CTC ACC CAC  
CCG CGA CAA GTC TTA CTT TAG TGG GAC TGC GTG

4918 Pro Val Thr Lys Tyr Ile Met Thr Cys Met Ser  
CCA GTC ACC AAA TAC ATC ATG ACA TGC ATG TCG  
GGT CAG TGG TTT ATG TAG TAC TGT ACC TAC AGC

4951 Ala Asp Leu Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val  
GCC GAC CTG GAG GTC GTC ACC AGC ACC TGG GTG  
CGG CTG GAC CTC CAG CAG TGC TCG TGG ACC CAC

4984 Leu Val Gly Gly Val Leu Ala Ala Leu Ala Ala  
CTC GTT GGC GGC GTC CTC GCT GCT TTG GCC GCG  
GAG CAA CCG CCG CAG GAC CGA CGA AAC CCG CCG

5017 Tyr Cys Leu Ser Thr Gly Cys Val Val Ile Val  
TAT TGC CTG TCA ACA GGC TGC GTG GTC ATA GTG  
ATA ACC GAC AGT TGT CCG ACC CAC CAG TAT CAC

5050 Gly Arg Val Val Leu Ser Gly Lys Pro Ala Ile  
GGC AGG GTC GTC TTG TCC GGG AAG CCG GCA ATC  
CCG TCC CAG CAG AAC AGG CCC TTC GGC CGT TAG

5083 Ile Pro Asp Arg Glu Val Leu Tyr Arg Glu Phe  
ATA CCT GAC AGG GAA GTC CTC TAC CGA GAG TTC  
TAT GGA CTG TCC CTT CAG GAG ATG GCT CTC AAG

5116 Asp Glu Met Glu Glu Cys Ser Gln His Leu Pro  
GAT GAG ATG GAA GAG TGC TCT CAG CAC TTA CCG  
CTA CTC TAC CTT CTC ACC AGA GTC GTC AAT GGC

## 【図47】

5149 Tyr Ile Glu Gln Gly Met Met Leu Ala Glu Gln  
TAC ATC CAG CAA GGG ATG ATG CTC GCC GAG CAG  
ATG TAG CTC GTT CCC TAC TAC GAG CGG CTC GTC

5182 Phe Lys Gln Lys Ala Leu Gly Leu Leu Gln Thr  
TTC AAG CAG AAG GCC CTC GGC CTC CTG CAG ACC  
AAG TTC GTC TTC CGG GAG CCG GAG GAC GTC TGG

5215 Ala Ser Arg Gln Ala Glu Val Ile Ala Pro Ala  
GCG TCC CGT CAG GCA GAG GTT ATC GCC CCT GCT  
CGC AGG GCA GTC CGT CTC CAA TAG CGG GGA CGA

5248 Val Gln Thr Asn Trp Gln Lys Leu Glu Thr Phe  
GTC CAG ACC AAC TGG CAA AAA CTC GAG ACC TTC  
CAG GTC TGG TTG ACC GTT TTT CAG CTC TGG AAG

5281 Trp Ala Lys His Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly  
TGG GCG AAG CAT ATG TGG AAC TTC ATC AGT GGG  
ACC CGC TTC GTA TAC ACC TTG AAG TAG TCA CCC

5314 Ile Gln Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro  
ATA CAA TAC TTG GCG GGC TTG TCA ACG CTG CCT  
TAT GTT ATG AAC CGC CCG AAC AGT TGC GAC GGA

5347 Gly Asn Pro Ala Ile Ala Ser Leu Met Ala Phe  
GGT AAC CCC GCC ATT GCT TCA TTG ATG GCT TTT  
CCA TTG GGG CGG TAA CGA AGT AAC TAC CGA AAA

5380 Thr Ala Ala Val Thr Ser Pro Leu Thr Thr Ser  
ACA GCT GCT GTC ACC AGC CCA CTA ACC ACT AGC  
TGT CGA CGA CAG TGG TCG GGT GAT TGG TGA TCG

5413 Gln Thr Leu Leu Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp  
CAA ACC CTC CTC TTC AAC ATA TTG GGG GGG TGG  
GTT TGG GAG GAG AAG TTG TAT AAC CCC CCC ACC

## 【図48】

5446 Val Ala Ala Gln Leu Ala Ala Pro Gly Ala Ala  
GTG GCT GCC CAG CTC GCC GCC CCC GGT GCC GCT  
CAC CGA CGG GTC GAG CGG CGG GGG CCA CGG CGA

5479 Thr Ala Phe Val Gly Ala Gly Leu Ala Gly Ala  
ACT GCC TTT GTG GGC GCT GGC TTA GCT GGC GCC  
TGA CGG AAA CAC CCG CGA CCG AAT CGA CCG CGG

5512 Ala Ile Gly Ser Val Gly Leu Gly Lys Val Leu  
GCC ATC GGC AGT GTT GGA CTG GCG AAG GTC CTC  
CGG TAG CCG TCA CAA CCT GAC CCC TTC CAG GAG

5545 Ile Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala Gly Val  
ATA GAC ATC CTT GCA GGG TAT GGC GCG GGC GTG  
TAT CTG TAG GAA CGT CCC ATA CCG CGC CCG CAC

5578 Ala Gly Ala Leu Val Ala Phe Lys Ile Met Ser  
GCG GGA GCT CTT GTG GCA TTC AAG ATC ATG AGC  
CGC CCT CGA GAA CAC CGT AAG TTC TAG TAC TCG

5611 Gly Glu Val Pro Ser Thr Glu Asp Leu Val Asn  
GGT GAG GTC CCC TCC ACG GAG GAC CTC GTC AAT  
CCA CTC CAG GCG AGG TGC CTC CTG GAC CAG TTA

5644 Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro Gly Ala Leu  
CTA CTG CCC GCC ATC CTC TCG CCC GCA GCC CTC  
GAT GAC GGG CGG TAG GAG AGC GGG CCT CGG GAG

5677 Val Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg  
GTA GTC GGC GTG GTC TGT GCA GCA ATA CTG CGC  
CAT CAG CCG CAC CAG ACA CGT CGT TAT GAC GCG

5710 Arg His Val Gly Pro Gly Glu Gly Ala Val Gln  
CGG CAC GTT GGC CCG GGC GAG GGG GCA GTG CAG  
GCC GTG CAA CCG GGC CCG CTC CCC CGT CAC GTC

## 【図68】

J1 1091 Gln Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe  
CAG GTG TCC GGT CCA GTG TAT TGC TTC  
AGT --- --T --- --G --A --- ---  
Ser

J1 1118 Thr Pro Ser Pro Val Val Val Gly Thr  
ACC CCA AGC CCT GTT GTA GTG GGG ACG  
--T --C --- --C --G --G --- --A ---

J1 1145 Thr Asp Arg Phe Gly Ala Pro Thr Tyr  
ACC GAT CGT TTC GGC GCC CCT ACG TAT  
--- --- A-G -CG --- --G --C --C --C  
Ser

J1 1172 Asn Trp Gly Asp Asn Glu Thr Asp Val  
AAC TGG GGG CAC AAT GAG ACG GAC GTG  
-G- --- --T --A --- --T --- --- --C  
Ser Glu Asp

J1 1199 Leu Leu Leu Asn Asn Thr Arg Pro Pro  
CTG CTC CTA AAC AAC ACG CGG CCC CCG  
T-C G-- --T --- --T --C A-- --A ---  
Phe Val

J1 1226 His Gly Asn Trp Phe Gly Cys Thr  
CAC GGC AAC TGG TTC GGC TGT ACA  
-TG --- --T --- --- --T --- --  
Leu



## 【図49】

5743 Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala Phe Ala Ser Arg  
TGC ATG AAC CGG CTG ATA GCC TTC GCC TCC CGG  
ACC TAC TTG GCC GAC TAT CGG AAG CGG AGG GCC

5776 Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro  
GGG AAC CAT GTT TCC CCC ACG CAC TAC GTG CCG  
CCC TTG GTA CAA AGG GCG TGC GTG ATG CAC GCG

5809 Glu Ser Asp Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Ile  
GAG AGC GAT GCA GCT GCC CGC GTC ACT GCC ATA  
CTC TCG CTA CGT CGA CCG CGC CAG TGA CCG TAT

5842 Leu Ser Ser Leu Thr Val Thr Gln Leu Leu Arg  
CTC AGC AGC CTC ACT GTA ACC CAG CTC CTG AGG  
GAG TCG TCG GAG TGA CAT TGG GTC GAG GAC TCC

5875 Arg Leu His Gln Trp Ile Ser Ser Glu Cys Thr  
CGA CTG CAC CAG TGG ATA AGC TCG GAG TGT ACC  
GCT GAC GTG GTC ACC TAT TCG AGC CTC ACA TGG

5908 Thr Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Ile  
ACT CCA TGC TCC GGT TCC TGG CTA AGG GAC ATC  
TGA CGT ACG AGC CCA AGG ACC GAT TCC CTG TAG

5941 Trp Asp Trp Ile Cys Glu Val Leu Ser Asp Phe  
TGG GAC TGG ATA TGC GAG GTG TTG AGC GAC TTT  
ACC CTG ACC TAT ACG CTC CAC AAC TCG CTG AAA

5974 Lys Thr Trp Leu Lys Ala Lys Leu Met Pro Gln  
AAG ACC TGG CTA AAA GCT AAG CTC ATG CCA CAG  
TTC TGG ACC GAT TTT CGA TTC GAG TAC GGT GTC

6007 Leu Pro Gly Ile Pro Phe Val Ser Cys Gln Arg  
CTG CCT GGG ATC CCC TTT GTG TCC TGC CAG CGC  
GAC GGA CCC TAG GCG AAA CAC AGG ACG GTC GCG

## 【図50】

6040 Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg Val Asp Gly Ile  
CGG TAT AAG CGG GTC TGG CGA GTG GAC GCG ATC  
CCC ATA TTC CCC CAG ACC GCT CAC CTG CCG TAG

6073 Met His Thr Arg Cys His Cys Gly Ala Glu Ile  
ATG CAC ACT CGC TGC CAC TGT GGA GCT GAG ATC  
TAC GTG TGA GCG ACG GTG ACA CCT CGA CTC TAG

6106 Thr Gly His Val Lys Asn Gly Thr Met Arg Ile  
ACT GGA CAT GTC AAA AAC CCG ACG ATG AGG ATC  
TGA CCT GTA CAG TTT TTG CCC TGC TAC TCC TAG

6139 Val Gly Pro Arg Thr Cys Arg Asn Met Trp Ser  
GTC GGT CCT AGG ACC TGC ACG AAC ATG TGG AGT  
CAG CCA GGA TCC TGG ACG TCC TTG TAC ACC TCA

6172 Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly  
GGG ACC TTC CCC ATT AAT GCC TAC ACC ACG GCG  
CCC TGG AAG GCG TAA TTA CGG ATG TGG TGC CCG

6205 Pro Cys Thr Pro Leu Pro Ala Pro Asn Tyr Thr  
CCC TGT ACC CCC CTT CCT GCG CCG AAC TAC ACG  
GGG ACA TGG CCG GAA GGA CCG GGC TTG ATG TGC

6238 Phe Ala Leu Trp Arg Val Ser Ala Glu Glu Tyr  
TTC GCG CTA TGG ACG GTG TCT GCA CAG CAA TAT  
AAG CGC GAT ACC TCC CAC AGA CGT CTC CTT ATA

6271 Val Glu Ile Arg Gln Val Gly Asp Phe His Tyr  
GTG GAG ATA AGG CAG GTG GGG GAC TTC CAC TAC  
CAC CTC TAT TCC GTC CAC CCC CTG AAG GTC ATG

6304 Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Leu Lys Cys  
GTG ACG GGT ATG ACT ACT GAC AAT CTC AAA TGC  
CAC TGC CCA TAC TGA TGA CTC TTA GAG TTT ACG

## 【図70】

J1 219 Pro Cys Thr Val Asn Phe Thr Ile Phe  
HCV-1 CCC TGC ACT GTC AAC TTT ACC ATC TTC  
--T --T --C A-- --AC -- --A --T  
Ile Tyr

J1 246 Lys Val Arg Met Tyr Val Gly Gly Val  
HCV-1 AAG GTT AGG ATG TAT GTG GGG GGC GTC  
--A A-C -- --C -- --A --G --C  
Ile

J1 273 Glu His  
HCV-1 CAC CAC  
--A --

## 【図51】

## 【図52】

6337	Pro Cys Gln Val Pro Ser Pro Glu Phe Phe Thr CCG TGC CAG CTC CCA TCG CCC GAA TTT TTC ACA GGC ACG GTC CAG GGT AGC GGG CTT AAA AAG TGT	6634	Lys Ala Thr Cys Thr Ala Asn His Asp Ser Pro AAG GCA ACT TGC ACC GCT AAC CAT GAC TCC CCT TTC CGT TGA ACG TCG CGA TTG GTA CTG AGG GGA
6370	Glu Leu Asp Gly Val Arg Leu His Arg Phe Ala GAA TTG CAC GGG GTG CGC CTA CAT AGG TTT GCG CTT AAC CTG CCC CAC GCG GAT GTA TCC AAA CGC	6667	Asp Ala Glu Leu Ile Glu Ala Asn Leu Leu Trp GAT GCT GAG CTC ATA GAG GCC AAC CTC CTA TGG CTA CGA CTC GAG TAT CTC CGG TTG GAG GAT ACC
6403	Pro Pro Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val CCC CCC TGC AAG CCC TTG CTG CCG GAG GAG GTA GGG GGG ACG TTC GGG AAC GAC GCC CTC CTC CAT	6700	Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val AGG CAG GAG ATG GGC GGC AAC ATC ACC AGG GTT TCC GTC CTC TAC CCG CCG TTG TAG TGG TCC CAA
6436	Ser Phe Arg Val Gly Leu His Glu Tyr Pro Val TCA TTC AGA GTA GGA CTC CAC GAA TAC CCG GTA AGT AAG TCT CAT CCT GAG GTG CTT ATG GGC CAT	6733	Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser GAG TCA GAA AAC AAA GTG GTG ATT CTG GAC TCC CTC AGT CTT TTG TTT CAC CAC TAA GAC CTG AGG
6469	Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro Glu Pro Asp GGG TCG CAA TTA CCT TGC GAG CCC GAA CCG GAC CCC ACG GTT AAT GGA ACG CTC GGG CTT GGC CTG	6766	Phe Asp Pro Leu Val Ala Glu Glu Asp Glu Arg TTC GAT CCG CTT GTG GCG GAG GAG GAC GAC CGG AAG CTA GGC GAA CAC CGC CTC CTC CTG CTC GCC
6502	Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro GTG GCC GTG TTG ACG TCC ATG CTC ACT GAT CCC CAC CCG CAC AAC TGC AGG TAC GAG TGA CTA GGG	6799	Glu Ile Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg Lys GAG ATC TCC GTA CCC GCA GAA ATC CTG CCG AAG CTC TAG AGG CAT GGG CGT CTT TAG GAC GCC TTC
6535	Ser His Ile Thr Ala Glu Ala Ala Gly Arg Arg TCC CAT ATA ACA GCA GAG CCG CCC GGG CGA AGG AGG GTA TAT TGT CGT CTC CCG CCG CCC GCT TCC	6832	Ser Arg Arg Phe Ala Gln Ala Leu Pro Val Trp TCT CCG AGA TTC GCC CAG GCC CTG CCC GTT TGG AGA GCC TCT AAG CCG GTC CCG GAC GGG CAA ACC
6568	Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro Ser Val Ala Ser TTG CCG ACG GGA TCA CCC CCC TCT GTG GCC AGC AAC CCG TCC CCT AGT GGG GCG AGA CAC CCG TCG	6865	Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Val Glu GCG CCG CCG GAC TAT AAC CCC CCG CTA GTG GAG CGC GCC GGC CTC ATA TTG GGG GGC GAT CAC CTC
6601	Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu TCC TCG GCT AGC CAG CTA TCC GCT CCA TCT CTC AGG AGC CGA TCG GTC GAT AGG CGA GGT AGA GAG	6898	Thr Trp Lys Lys Pro Asp Tyr Glu Pro Pro Val ACG TGG AAA AAG CCC GAC TAC GAA CCA CCT GTG TGC ACC TTT TTC GGG CTC ATG CTT GGT GGA CAC

## 【図53】

6931 Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Pro Lys Ser  
GTC CAT GGC TGT CCG CTT CCA CCT CCA AAG TCC  
CAG GTA CCG ACA GGC GAA GGT GGA GGT TTC AGG

6964 Pro Pro Val Pro Pro Pro Arg Lys Lys Arg Thr  
CCT CCT GTG CCT CCG CCT CGG AAG AAG CGG ACG  
GGA GGA CAC CCA GGC GCA CCC TTC TTC GCC TGC

6997 Val Val Leu Thr Glu Ser Thr Leu Ser Thr Ala  
GTG GTC CTC ACT GAA TCA ACC CTA TCT ACT GCC  
CAC CAG GAG TGA CTT AGT TGG GAT AGA TGA CCG

7030 Leu Ala Glu Leu Ala Thr Arg Ser Phe Gly Ser  
TTG GCC GAG CTC GCC ACC AGA AGC TTT GGC AGC  
AAC CGG CTC GAG CGG TGG TCT TCG AAA CCG TCG

7063 Ser Ser Thr Ser Gly Ile Thr Gly Asp Asn Thr  
TCC TCA ACT TCC GGC ATT ACC GGC GAC AAT ACG  
AGG AGT TGA AGG CCG TAA TGC CCG CTG TTA TGC

7096 Thr Thr Ser Ser Glu Pro Ala Pro Ser Gly Cys  
ACA ACA TCC TCT GAG CCC GCC CCT TCT GGC TGC  
TGT TGT AGG AGA CTC GGG CCG GGA AGA CCG ACG

7129 Pro Pro Asp Ser Asp Ala Glu Ser Tyr Ser Ser  
CCC CCC GAC TCC GAC GCT GAG TCC TAT TCC TCC  
GGG GGG CTG AGG CTG CGA CTC AGG ATA AGG AGG

7162 Met Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro  
ATG CCC CCC CTG GAG GGG GAG CCT GGG GAT CCG  
TAC GGG GGG GAC CTC CCC CTC GGA CCC CTA GGC

7195 Asp Leu Ser Asp Gly Ser Trp Ser Thr Val Ser  
CAT CTT AGC GAC GGG TCA TGG TCA ACG GTC AGT  
CTA GAA TCG CTG CCC AGT ACC AGT TGC CAG TCA

## 【図54】

7228 Ser Glu Ala Asn Ala Glu Asp Val Val Cys Cys  
AGT GAG GCC AAC GCG GAG GAT GTC GTG TGC TGC  
TCA CTC CCG TTG CCG CTC CTA CAG CAC ACG ACG

7261 Ser Met Ser Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Leu Val  
TCA ATG TCT TAC TCT TGG ACA GGC GCA CTC GTC  
AGT TAC AGA ATG AGA ACC TGT CCG CGT GAG CAG

7294 Thr Pro Cys Ala Ala Glu Glu Gln Lys Leu Pro  
ACC CCG TGC GCC GCG GAA GAA CAG AAA CTG CCC  
TGG GGC ACG CCG CCG CTT CTT GTC TTT GAC GCG

7327 Ile Asn Ala Leu Ser Asn Ser Leu Leu Arg His  
ATC AAT GCA CTA AGC AAC TCG TTG CTA CGT CAC  
TAG TTA CGT GAT TCG TTG AGC AAC GAT GCA GTG

7360 His Asn Leu Val Tyr Ser Thr Thr Ser Arg Ser  
CAC AAT TTG GTG TAT TCC ACC ACC TCA CGC AGT  
GTG TTA AAC CAC ATA AGG TGG TGG AGT CCG TCA

7393 Ala Cys Gln Arg Gln Lys Lys Val Thr Phe Asp  
GCT TGC CAA AGG CAG AAG AAA GTC ACA TTT GAC  
CGA ACG GTT TCC GTC TTC TTT CAG TGT AAA CTG

7426 Arg Leu Gln Val Leu Asp Ser His Tyr Gln Asp  
AGA CTG CAA GTT CTG GAC AGC CAT TAC CAG GAC  
TCT GAC GTT CAA GAC CTG TCG GTA ATG GTC CTG

7459 Val Leu Lys Glu Val Lys Ala Ala Ala Ser Lys  
GTA CTC AAG GAG GTT AAA GCA GCG GCG TCA AAA  
CAT GAG TTC CTC CAA TTT CGT CCG CCG AGT TTT

7492 Val Lys Ala Asn Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala  
GTG AAG GCT AAC TTG CTA TCC GTA GAG GAA GCT  
CAC TTC CGA TTG AAC GAT AGG CAT CTC CTT CGA

## 【図76】

C200 5158 Gln Gly Met Gln Leu Ala Glu Gln Phe  
HCV-1 CAG GGA ATG CAG CTC GCC GAG CAA TTC  
--A --G -- -- AT- -- -- --G --  
Met

C200 5185 Lys Gln Lys Ala Leu Gly Leu Leu Gln  
HCV-1 AAG CAG AAG GCG CTC GGG TTG CTG CAA  
-- -- -- --C -- --C C-C -- --G

C200 5212 Thr Ala Thr Lys Gln Ala Glu Ala Ala  
HCV-1 ACA GCC ACC AAG CAA GCG GAG GCT GCT  
--C --G T-- CCG --G --A -- --T- ATC  
Ser Arg Val Ile

C200 5239 Ala Pro Cys Glu Ser Met His Ala Ser  
HCV-1 GCT CCG TGT GAG TCA ATG CAC GCC TCG  
--C --T GC- -TC CAG -CC A-- TGG CAA  
Ala Val Gln Thr Asn Trp Gln

C200 5266 A  
HCV-1 -AA CTC GAG ACC TTC TGG GCG AAG CAT  
Lys Leu Glu Thr Phe Trp Ala Lys His

HCV-1 5293 ATG TCG AAC TTC ATC AGT CCG ATA CAA TA  
Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln

## 【図55】

7525 Cys Ser Leu Thr Pro Pro His Ser Ala Lys Ser  
TGC AGC CTG ACG CCC CCA CAC TCA GCC AAA TCC  
ACG TCG GAC TGC GGG GGT GTG AGT CCG TTT AGG

7558 Lys Phe Gly Tyr Gly Ala Lys Asp Val Arg Cys  
AAG TTT GGT TAT GCG GCA AAA GAC GTC CGT TGC  
TTC AAA CCA ATA CCC CGT TTT CTG CAG GCA ACG

7591 His Ala Arg Lys Ala Val Thr His Ile Asn Ser  
CAT GCC AGA AAG GCC GTA ACC CAC ATC AAC TCC  
GTA CCG TCT TTC CCG CAT TCG GTG TAG TTG AGG

7624 Val Trp Lys Asp Leu Leu Glu Asp Asn Val Thr  
GTG TGG AAA GAC CTT CTG CAA GAC AAT GTA ACA  
CAC ACC TTT CTG GAA GAC CTT CTG TTA CAT TGT

7657 Pro Ile Asp Thr Thr Ile Met Ala Lys Asn Glu  
CCA ATA GAC ACT ACC ATC ATG GCT AAG AAC GAG  
GGT TAT CTG TGA TGG TAG TAC CGA TTC TTG CTC

7690 Val Phe Cys Val Gln Pro Glu Lys Gly Gly Arg  
GTT TTC TGC GTT CAG CCT GAG AAG GGG GGT CGT  
CAA AAG ACG CAA GTC GGA CTC TTC CCC CCA GCA

7723 Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro Asp Leu  
AAG CCA GCT CGT CTC ATC GTG TTC CCC GAT CTG  
TTC GGT CGA GCA GAG TAG CAC AAG GGG CTA GAC

7756 Gly Val Arg Val Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr  
GGC CTC CGC GTG TGC GAA AAG ATG GCT TTG TAC  
CCG CAC GCG CAC ACG CTT TTC TAC CGA AAC ATG

7789 Asp Val Val Thr Lys Leu Pro Leu Ala Val Met  
GAC GTC GTT ACA AAG CTC CCC TTG GCC GTG ATG  
CTG CAC CAA TGT TTC GAG GGG AAC CCG CAC TAC

## 【図56】

7822 Gly Ser Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Gly  
GGA AGC TCC TAC GGA TTC CAA TAC TCA CCA GGA  
CCT TCG AGG ATG CCT AAG GTT ATG AGT GGT CCT

7855 Gln Arg Val Glu Phe Leu Val Gln Ala Trp Lys  
CAG CCG GTT GAA TTC CTC GTG CAA GCG TGG AAG  
GTC GCC CAA CTT AAG GAG CAC GTT CCG ACC TTC

7888 Ser Lys Lys Thr Pro Met Gly Phe Ser Tyr Asp  
TCC AAG AAA ACC CCA ATG GGG TTC TCG TAT GAT  
AGG TTC TTT TGG GGT TAC CCC AAG AGC ATA CTA

7921 Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr Glu Ser  
ACC CGC TGC TTT GAC TCC ACA GTC ACT GAG AGC  
TGG GCG ACG AAA CTG AGG TGT CAG TGA CTC TCG

7954 Asp Ile Arg Thr Glu Glu Ala Ile Tyr Gln Cys  
GAC ATC CGT ACG GAG GAG GCA ATC TAC CAA TGT  
CTG TAG GCA TGC CTC CTC CGT TAG ATG GTT ACA

7987 Cys Asp Leu Asp Pro Gln Ala Arg Val Ala Ile  
TGT GAC CTC GAC CCC CAA GCC CGC GTC GCC ATC  
ACA CTG GAG CTC GGG GTT CCG GCG CAC CCG TAG

8020 Lys Ser Leu Thr Glu Arg Leu Tyr Val Gly Gly  
AAG TCC CTC ACC GAG AGG CTT TAT GTT GGG GGC  
TTC AGG GAG TCG CTC TCC GAA ATA CAA CCC CCG

8053 Pro Leu Thr Asn Ser Arg Gly Glu Asn Cys Gly  
CCT CTT ACC AAT TCA AGG GGG GAG AAC TGC GGC  
GGA GAA TGG TTA AGT TCC CCC CTC TTG ACG CCG

8086 Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val Leu Thr  
TAT CGC AGG TGC CGC GCG AGC GGC GTA CTG ACA  
ATA GCG TCC ACG GCG GCG TCG CCG CAT GAC TGT

## 【図78】

J1 245 Phe Lys Val Arg Met Tyr Val Gly Gly  
HCV-1 TTC AAA GTC AGC ATC TAC GTG GGA CCG  
---T ---A --- --- --- --- --- ---  
Ile

J1 272 Val Glu His Arg Leu Glu Val Ala Cys  
HCV-1 GTC GAG CAC AGG CTG GAA GTT GCT TGC  
--- --A --- --- --- --- --C --C ---  
Ala

J1 292 Asn Trp Thr Arg Gly Glu Arg Cys Asp  
HCV-1 AAC TCG ACG CCG GCG GAG CGT TGT GAT  
--- --- --- --- --- --A --- --C ---

J1 326 Leu Asp Asp Arg Asp  
HCV-1 CTC GAC GAC AGG GAC A  
--- --A --- --- --- ---  
Glu

## 【図57】

8119 Thr Ser Cys Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Ile  
ACT AGC TGT GGT AAC ACC CTC ACT TGC TAC ATC  
TGA TCG ACA CCA TTG TGG GAG TGA ACG ATG TAG

8152 Lys Ala Arg Ala Ala Cys Arg Ala Ala Gly Leu  
AAC GCC CGG GCA GCC TGT CGA GCC GCA GGG CTC  
TTC CGG GCC CGT CGG ACA GCT CGG CGT CCC GAG

8185 Gln Asp Cys Thr Met Leu Val Cys Gly Asp Asp  
CAG GAC TGC ACC ATG CTC GTC TGT CGC CAC GAC  
CTC CTG ACC TCG TAC GAG CAC ACA CCG CTG CTG

8218 Leu Val Val Ile Cys Glu Ser Ala Gly Val Gln  
TTA GTC GTT ATC TGT GAA AGC GCG CGC GTC CAG  
AAT CAG CAA TAG ACA CTT TCG CGC CCC CAG GTC

8251 Glu Asp Ala Ala Ser Leu Arg Ala Phe Thr Glu  
GAG GAC GCG GCG AGC CTC AGA GCC TTC ACG GAG  
CTC CTG CGC CGC TCG GAC TCT CGG AAG TGC CTC

8284 Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro Pro Gly Asp  
GCT ATG ACC AGG TAC TCC GCC CCC CCT GGG GAC  
CGA TAC TGG TCC ATG AGG CGG GGG GGA CCC CTG

8317 Pro Pro Gln Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile  
CCC CCA CAA CCA GAA TAC GAG TTG GAG CTC ATA  
GGG GGT GTT GGT CTT ATG CTG AAC CTC GAG TAT

8350 Thr Ser Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His  
ACA TCA TGC TCC TCC AAC GTG TCA GTC GCC CAC  
TGT AGT ACG AGG AGG TTG CAC AGT CAG CGG GTG

8383 Asp Gly Ala Gly Lys Arg Val Tyr Tyr Leu Thr  
GAC GGC GCT GGA AAG AGG GTC TAC TAC CTC ACC  
CTG CCG CGA CCT TTC TCC CAG ATG ATG GAG TCG

## 【図58】

8416 Arg Asp Pro Thr Thr Pro Leu Ala Arg Ala Ala  
CGT GAC CCT ACA ACC CCC CTC GCG AGA GCT GCG  
GCA CTG GGA TGT TGG GGG GAG CGC TCT CGA CGC

8449 Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro Val Asn Ser  
TGG CAG ACA GCA ACA CAC ACT CCA GTC AAT TCC  
ACC CTC TGT CGT TCT GTG TGA GGT CAG TTA AGG

8482 Trp Leu Gly Asn Ile Ile Met Phe Ala Pro Thr  
TGG CTA GGC AAC ATA ATC ATG TTT GCC CCC ACA  
ACC GAT CCG TTG TAT TAG TAC AAA CGG GGG TGT

8515 Leu Trp Ala Arg Met Ile Leu Met Thr His Phe  
CTG TGG GCG AGG ATG ATA CTG ATG ACC CAT TTC  
GAC ACC CGC TCC TAC TAT GAC TAC TGG GTA AAG

8548 Phe Ser Val Leu Ile Ala Arg Asp Gln Leu Glu  
TTT AGC GTC CTT ATA GCC AGG GAC CAG CTT GAA  
AAA TCG CAG GAA TAT CGG TCC CTG CTC GAA CTT

8581 Gln Ala Leu Asp Cys Glu Ile Tyr Gly Ala Cys  
CAG GCC CTC GAT TGC GAG ATC TAC GGG GCC TGC  
GTC CGG GAG CTA ACG CTC TAG ATG CCC CGG ACG

8614 Tyr Ser Ile Glu Pro Leu Asp Leu Pro Pro Ile  
TAC TCC ATA GAA CCA CTT GAT CTA CCT CCA ATC  
ATG AGG TAT CTT GGT GAA CTA GAT GGA GGT TAG

8647 Ile Gln Arg Leu His Gly Leu Ser Ala Phe Ser  
ATT CAA ACA CTC CAT GGC CTC AGC GCA TTT TCA  
TAA GTT TCT GAG GTA CCG GAG TCG CGT AAA AGT

8680 Leu His Ser Tyr Ser Pro Gly Glu Ile Asn Arg  
CTC CAC AGT TAC TCT CCA GGT GAA ATT AAT AGG  
GAG GTG TCA ATG AGA GGT CCA CTT TAA TTA TCC

## 【図80】

J1 409 Ala Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser  
HCV-1 CCC ACT AGG AAG ACT TCC GAG CGG TCG  
--- --G --A --- --- --- --- ---

J1 436 Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro Ile  
HCV-1 CAA CCT CGT CGA AGG CGA CAA CCT ATC  
--- --- --A --T --A --T --G --- ---

J1 463 Pro Lys Ala Arg Gln Pro Glu Gly Arg  
HCV-1 CCC AAG GCT CGC CAG CCC GAG GGC AGG  
--- --- --- --T --G --- --- ---  
Arg

J1 490 Ala Trp Ala Gln Pro Gly Tyr Pro Trp  
HCV-1 GCC TGG GCT CAG CCC GGG TAC CCT TGG  
A-- --- --- --- --- --- --- ---  
Thr

J1 517 Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Met Gly  
HCV-1 CCC CTC TAT GGC AAC GAG GGC ATG GGG  
--- --- --- --- --T --- --- ---  
Cys

J1 544 Trp Ala Gly Trp Leu  
HCV-1 TGG GCA GGA TGG CTC CT  
--- --G --- --- --- ---



【图61】

J1	191	Gly Ile Val Pro Ala Ser Gln Val Cys	GGT ATC GTA CCC CCG TCG CAG GTG TGC
PT		T G AA AGT T	
		<u>Lys Ser</u>	
J1	218	Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr Pro Ser	GGT CCA GTG TAT TGC TTC ACC CCA AGC
PT		G A T C	
J1	245	Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg	CCT GTT GTA GTG GGG ACC ACC GAT CGT
PT		C G G A C A G	
J1	272	Phe Gly Ala Pro Thr Tyr Asn Trp Gly	TTC GGC GCC CCT ACC TAT AAC TCG GGG
PT		CG G C C C G T	
		<u>Ser Ser</u>	
J1	299	Asp Asn Glu Thr Asp Val Leu Leu Leu	GAC AAT GAG ACC GAC GTG CTG CTC CTA
PT		A T C T C G T	
		Glu Asp Phe Val	
J1	326	Asn Asn Thr Arg Pro Pro His Gly Asn	AAC AAC ACG CGG CCC CCG CAC GGC AAC
PT		T C A A TG T	
		<u>Leu</u>	
J1	353	Trp Phe Gly Cys Thr	TGG TTC GGC TGT ACA
PT		T	
		<u>CTGGATGAAGCTCAACTGGATT</u>	
		primer 199A	

又フレオナド マーチ : 259/367 (70.6%)  
 下し/ 融 マーチ (25歳以上条件) : 93/122 (76.2%)  
 (25歳以下条件) : 111/122 (91.0%)

## 【図63】

J1 HCV-1	2704 NS1 M HCV-1									
						Pro	Leu	Val		
						T	CCG	CTC	GTC	
						A	---	---	---	
J1	11	Gly	Ala	Pro	Leu	Gly	Gly	Ala	Ala	Arg
		GGC	CCC	TTA	GGG	GCC	GCT	CCC	AGG	
		---	---	---T	C-T	---A	---	---	---	---
J1	38	Ala	Leu	Ala	His	Gly	Val	Arg	Val	Leu
		GCC	CTG	GCA	CAT	GGT	GTC	CGG	GTT	CTG
		---	---	---G	---	---C	---	---	---	---
J1	65	Glu	Asp	Gly	Val	Asn	Tyr	Ala	Thr	Gly
		GAG	GAC	GGC	GTG	AAC	TAT	GCA	ACA	GGG
		---A	---	---	---	---	---	---	---	---
J1	92	Asn	Leu	Pro	Gly	Cys	Ser	Phe	Ser	Ile
		AAT	TTG	CCC	GGT	TGC	TCT	TTC	TCT	ATC
		---C	C-T	---T	---	---	---	---	---	---
J1	119	Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Cys	Leu
		TTC	CTC	TTG	GCT	CTG	CTG	TCC	TGT	TTG
		---	---T	C---	---	---	---C	---T	---C	---
J1	146	Thr	Ile	Pro	Ala	Ser	Ala	Tyr	Glu	Val
		ACC	ATC	CCA	GCT	TCC	GCT	TAT	CAA	GTG
		---T	G-G	---C	---	---G	---C	---C	---	---
		Val						Gln		
J1	173	Arg	Asn	Val	Ser	Gly	Ile	Tyr	His	Val
		CGC	AAC	GTG	TCC	GGG	ATA	TAC	CAT	CTC
		---	---	TCC	A-G	---	C-T	---	---C	---
		Ser	Thr			Leu				
J1	200	Thr	Asn	Asp	Cys	Ser	Asn	Ser	Ser	Ile
		ACA	AAC	GAC	TGC	TCC	AAC	TCA	AGC	ATT
		---C	---T	---T	---	C-T	---	---G	---T	---
						Pro				

## 【図64】

J1	227	Val	Tyr	Glu	Ala	Ala	Asp	Val	Ile	Met
		GTG	TAT	GAG	GCG	GCG	CAC	GTG	ATC	ATG
		---	---C	---	---	---C	---T	---CC	---	C---
								Ala		Leu
J1	254	His	Ala	Pro	Gly	Cys	Val	Pro	Cys	Val
		CAT	GCC	CCC	GGG	TGC	GTG	CCC	TGC	GTT
		---C	A-T	---G	---	---	---C	---T	---	---
		Thr								
J1	281	Arg	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	Arg	Cys	Trp
		CGG	GAG	AAC	AAT	TCC	TCC	CGT	TGC	TGG
		---T	---	GG-	---C	G---	---G	A-G	---T	---
				Gly		Ala				
J1	308	Val	Ala	Leu	Thr	Pro	Thr	Leu	Ala	Ala
		GTA	GCG	CTC	ACT	CCC	ACG	CTC	GCG	GCC
		---A	---	A-G	---C	---T	---	G-G	---C	A---
				Met				Val		Thr
J1	335	Arg	Asn	Ala	Ser	Val	Pro	Thr	Thr	Thr
		AGG	AAT	GCC	AGC	GTG	CCC	ACT	ACG	ACA
		---	G---	-G-	-AA	C---	---	G-G	---	CAG
		Asp	Gly	Lys	Leu			Ala		
Gln										
J1	362	Leu	Arg	Arg	His	Val	Asp	Leu	Leu	Val
		TTA	CGA	CGC	CAC	GTG	GAC	TTG	CTC	GTT
		C-T	---	---T	---	A---	---T	C---	---T	---C
						Ile				
J1	389	Gly	Thr	Ala	Ala	Phe	Cys	Ser	Ala	Met
		GGG	ACG	GCT	GCT	TTC	TGC	TCC	GCT	ATG
		---	-GC	---C	A-C	C---	---T	---G	---C	C-C
		Ser		Thr	Leu					Leu
J1	416	Tyr	Val	Gly	Asp	Leu	Cys	Gly	Ser	Val
		TAC	GTG	GGG	GAT	CTC	TGC	GGA	TCT	GTT
		---	---	---	---C	---A	---	---G	---	---C

## 【図65】

J1	443	Phe Leu Ile Ser Gln Leu Phe Thr Phe TTC CTC ATC TCC CAG CTG TTC ACC TTC --T --T G-- GG- --A --- --- --- --- Val Gly	J1
J1	470	Ser Pro Arg Arg His Glu Thr Val Gln TCG CCT CGC CGG CAT GAG ACA GTA CAG --T --C A-G --C --C TG- --G ACC --A Trp Thr	J1
J1	497	Asp Cys Asn Cys Ser Ile Tyr Pro Gly GAC TGC AAC TGC TCA ATC TAT CCC GGC -GT --- --T --- --T --- --- --- --- Gly	J1
J1	524	His Val Ser Gly His Arg Met Ala Trp CAC GTA TCA GGC CAT CGC ATG GCT TGG --T A-- A-G --T --C --- --- --A --- Ile Thr	J1
J1	551	Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr GAT ATG ATG ATG AAC TGG TCG CCC ACC --- --- --- --- --- --C --T ---	J1
J1	578	Ala Ala Leu Val Val Ser Gln Leu Leu GCA GCC TTA GTG GTG TCG CAG TTA CTC A-G --G --G --A A-- G-T --- C-G --- Thr Met Ala	J1
J1	605	Arg Ile Pro Gln Ala Val Met Asp Met CGG ATC CCA CAA GCT GTC ATG GAC ATG --- --- --- --C A-- T-- --- --- Ile Leu	J1
J1	632	Val Ala Gly Ala His Trp Gly Val Leu GTG GCG GGG GCC CAC TGG GGA GTC CTA A-C --T --T --T --- --- --- --G Ile	J1

## 【図66】

J1	659	Ala Gly Leu Ala Tyr Tyr Ser Met Val GCG GGC CTT GCC TAC TAT TCC ATG GTG --- --- A-A --G --T --TC --- --- Ile Phe	J1
J1	686	Gly Asn Trp Ala Lys Val Leu Ile Val GGG AAC TGG GCT AAG GTT TTG ATT GTG --- --- --- --G --- --C C-- G-A --- Val	J1
J1	713	Met Leu Leu Phe Ala Gly Val Asp Gly ATG CTA CTC TTT GCC GGC GTT GAC GCG C-- --G --A --- --- --- --C --- -C- Leu Ala	J1
J1	740	His Thr Arg Val Thr Gly Gly Val Gln CAT ACC CGC CTC ACG GCG GGG GTG CAA G-A --- -A- --C --C --- --A AGT GCC Glu His Ser Ala	J1
J1	767	Gly His Val Thr Ser Thr Leu Thr Ser GGC CAC GTC ACC TCT ACA CTC ACC TCC --- --- ACT GTG --- GGA T-T GTT AG- Thr Val Gly Phe Val	J1
J1	794	Leu Phe Arg Pro Gly Ala Ser Gln Lys CTC TTT AGA CCT GGG GCG TCC CAG AAA --- C-C GC- --A --C --C AAG C-- --C Leu Ala Lys Asn	J1
J1	821	Ile Gln Leu Val Asn Thr Asn Gly Ser ATT CAG CTT GTA AAC ACC AAT GGC AGT G-C --- --G A-C --- --- --C --- --- Val Ile	J1
J1	848	Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn TGG CAT ATC AAC AGG ACT GCC CTG AAC --- --C C-- --T --C --G --- --- --- Ser	J1



## 【図71】

C200 領域・配列 77 HCV-1

C200 3781 ACA CTG GGC TTT GGT GCT T-C ---  
HCV-1 Thr Leu Gly Phe Gly Ala Tyr

C200 3808 Lys Ala His Gly Thr Asp Pro Asn Ile  
HCV-1 AAG GCA CAT GGC ACC GAC CCC AAC ATC  
--- --T --- --G -T- --T --T ---  
Ile

C200 3835 Arg Thr Gly Val Arg Thr Ile Thr Thr  
HCV-1 AGA ACT GGG GTA AGG ACC ATC ACC ACA  
--G --C --- --G --A --A --T --- --T

C200 3862 Gly Ala Pro Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr  
HCV-1 GGT GCC CCC ATT ACG TAC TCC ACC TAT  
--C AG- --- --C --- --- --- --- --C  
Ser

C200 3889 Arg Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys  
HCV-1 CGC AAG TTC CTT GCC GAC GGT GGT TGC  
G-- --- --- --- --- --- --C --C ---  
Gly

C200 3916 Ser Gly Gly Ala Tyr Asp Ile Ile  
HCV-1 TCC GGG GGC GCC TAT GAC ATC ATA A  
--G --- --- --T --- --- --A --- --T  
Ile

HCV-1 3943 TGT GAC GAG TGC CAC TCC ACG GAT GCC  
Cys Asp Glu Cys His Ser Thr Asp Ala

HCV-1 3970 ACA TCC ATC TTG GGC ATC GGC ACT GTC  
Thr Ser Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val

## 【図72】

HCV-1 3997 CTT GAC CAA GCA GAG ACT GCG GGG GCG  
Leu Asp Gln Ala Glu Thr Ala Gly Ala

HCV-1 4024 AGA CTG GTT GTG CTC GCC ACC GCC ACC  
Arg Leu Val Val Leu Ala Thr Ala Thr

HCV-1 4051 CCT CCG GGC TCC GTC ACT CTG CCC CAT  
Pro Pro Gly Ser Val Thr Val Pro His

HCV-1 4078 CCC AAC ATC GAG GAG GTT GCT CTG TCC  
Pro Asn Ile Glu Glu Val Ala Leu Ser

HCV-1 4105 ACC ACC GGA GAG ATC CCT TTT TAC GGC  
Thr Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly

C200 4132 Ser Ile Pro Ile Glu Ala Ile Lys  
HCV-1 A AGC ATC CCC ATC GAG GCC ATC AAG  
AAG GCT --- --- C-- --A --TA ---  
Lys Ala Val

C200 4159 Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys His  
HCV-1 GGG GGA AGG CAT CTC ATC TTC TGC CAT  
--- --G --A --- --- --- --- --T ---

C200 4186 Ser Lys Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala  
HCV-1 TCC AAG AAG AAG TGT GAC GAG CTC GCC  
--A --- --- --- --C --- --A --- ---

C200 4213 Ala Lys Leu Ser Ala Leu Gly Leu Asn  
HCV-1 GCA AAG CTC TCA GCC CTC GGA CTC AAT  
--- --- --- GTC --A T-G --C A-- ---  
Val Ile

C200 4240 Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp  
HCV-1 GCC GTG GCG TAT TAC CGC GGT CTT GAT  
--- --- --C --C --- --- --- --- --C



## 【図73】

C200	4267	Val Ser Val Ile Pro Thr Ser Gly Asp
HCV-1		GTG TCC GTC ATA CCA ACT AGC GGA GAC
		--- --- --- --C --G --C --- --C --T
C200	4294	Val Val Val Val Ala Thr Asp
HCV-1		GTC GTT GTC GTG GCA ACA GAC GC 4316
		--T --C --- --- --- --C --T --C CTC
HCV-1	4321	ATG ACC GGC TAT ACC GGC GAC TTC GAC
		Met Thr Gly Tyr Thr Gly Asp Phe Asp
HCV-1	4348	TCG GTG ATA GAC TGC AAT ACG TGT GTC
		Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Cys Val
HCV-1	4375	ACC CAG ACA GTC GAT TTC AGC CTT GAC
		Thr Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp
HCV-1	4402	CCT ACC TTC ACC ATT GAG ACA ATC ACG
		Pro Thr Phe Thr Ile Glu Thr Ile Thr
HCV-1	4429	CTC CCC CAG GAT GCT GTC TCC CGC ACT
		Leu Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Thr
HCV-1	4456	CAA CGT CCG GGC AGG ACT GGC AGG GGC
		Gln Arg Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly
HCV-1	4483	AAG CCA GGC ATC TAC AGA TTT GTG GCA
		Lys Pro Gly Ile Tyr Arg Phe Val Ala
HCV-1	4510	CCG GGG GAG CGC CCC TCC GGC ATG TTC
		Pro Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe
HCV-1	4537	GAC TCG TCC GTC CTC TGT GAG TGC TAT
		Asp Ser Ser Val Leu Cys Glu Cys Tyr

## 【図74】

HCV-1	4564	GAC GCA GGC TGT GCT TGC TAT GAG CTC
		Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu
HCV-1	4591	ACG CCC GCC GAG ACT ACA GTT AGG CTA
		Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Arg Leu
HCV-1	4618	CCA GCG TAC ATG AAC ACC CCG GCG CTT
		Arg Ala Tyr Met Asn Thr Pro Gly Leu
HCV-1	4645	CCC GTG TGC CAG GAC CAT CTT GAA TTT
		Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe
HCV-1	4672	TCG GAG GGC GTC TTT ACA GGC CTC ACT
		Trp Glu Gly Val Phe Thr Gly Leu Thr
HCV-1	4699	CAT ATA GAT GCC CAC TTT CTA TCC CAG
		His Ile Asp Ala His Phe Leu Ser Gln
HCV-1	4726	ACA AAG CAG AGT GGG GAG AAC CTT CCT
		Thr Lys Gln Ser Gly Glu Asn Leu Pro
HCV-1	4753	TAC CTG GTA GCG TAC CAA GCC ACC GTC
		Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val
HCV-1	4780	TGC GCT AGG GCT CAA GCC CCT CCC CCA
		Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro Pro Pro
HCV-1	4807	TCG TGG GAC CAG ATC TGC AAG TGT TTG
		Ser Trp Asp Gln Met Trp Lys Cys Leu
HCV-1	4834	ATT CGC CTC AAG CCC ACC CTC CAT CCG
		Ile Arg Leu Lys Pro Thr Leu His Gly
HCV-1	4861	CCA ACA CCC CTG CTA TAC AGA CTG GGC
		Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly

【図75】

HCV-1	4888	GCT GTT CAG AAT GAA ATC ACC CTG ACC		
		Ala Val Gln Asn Glu Ile Thr Leu Thr		
HCV-1	4915	CAC CCA GTC ACC AAA TAC ATC ATC ACA	J1	
		His Pro Val Thr Lys Tyr Ile Met Thr	HCV-1	
HCV-1	4942	TGC ATG TCG GCC CAC CTG GAG GTC GTC	J1	
		Cys Met Ser Ala Asp Leu Glu Val Val	HCV-1	
HCV-1	4969	ACG AGC ACC TGG CTG CTC GTT GGC GGC	J1	
		Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly	HCV-1	
HCV-1	4996	GTC CTG GCT GCT TTC GCC GCG TAT TGC	J1	
		Val Leu Ala Ala Leu Ala Ala Tyr Cys	Ala	
HCV-1	5023	CTG TCA ACA GGC TGC GTC GTC ATA GTC	J1	
		Leu Ser Thr Gly Cys Val Val Ile Val	HCV-1	
HCV-1	5050	GCG AGG GTC GTC TTC TCC GCG AAG CCG	J1	
		Gly Arg Val Val Leu Ser Gly Lys Pro	HCV-1	
C200				
HCV-1	5077	CCA ATC ATA CCT GAC AGC	J1	
		Ala Ile Ile Pro Asp Arg	HCV-1	
C200				
HCV-1	5104	Tyr Arg Glu Phe Asp Glu Met Glu Glu	J1	
		TAC CGA GAG TTC GAT GAG ATG GAA GAG	HCV-1	
C200				
HCV-1	5131	Cys Ala Ser His Leu Pro Tyr Ile Glu	J1	
		TGC GCC TCA CAC CTC CCC TAC ATC GAA	HCV-1	
		T-T CAG T-A --G --G		
		Ser Gln		

【図77】

NS1	4871	IT	HCV-1
1		Leu Gly Asn Trp Phe Gly Cys Thr Trp	
		G TTG GGC AAT TGG TTC GGT TGC ACC TGG	
		- C- -- -- -- -- -- -- -- -- --	
29		Met Asn Ser Ser Gly Phe Thr Lys Val	
		ATG AAC TCA TCT GGA TTT ACC AAA GTG	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
		Thr	
56		Cys Gly Ala Pro Pro Cys Val Ile Gly	
		TGC GGA GCC CCT CCT TGT GTC ATC GGA	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
83		Gly Val Gly Asn Asn Thr Leu Gln Cys	
		GCG GTC GGC AAC AAC ACC TTG CAA TGC	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
		Ala	
110		Pro Thr Asp Cys Phe Arg Lys His Pro	
		CCC ACT GAC TGT TTC CCG AAG CAT CCG	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
137		Asp Ala Thr Tyr Ser Arg Cys Gly Ser	
		GAC GCC ACA TAC TCT CCG TGC GGT TCC	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
164		Gly Pro Trp Ile Thr Pro Arg Cys Leu	
		GCT CCC TGG ATT ACG CCC AGG TGC CTC	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
191		Val His Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His	
		GTC CAC TAC CCT TAT ACG CTT TGC CAT	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
		Asp	
218		Tyr Pro Cys Thr Val Asn Tyr Thr Leu	
		TAT CCC TGT ACT GTC AAC TAC ACC TTG	
		-- -- -- -- -- -- -- -- --	
		Ile	
		Ile	

## 【図79】

		J1 配列		HCV-1
J1	1	GGGTCTAGCCATGGCGTTAGTATGAGTCTC		
HCV-1		-----		
J1	31	GTGCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCC		
HCV-1		-----		
J1	66	ATAGTGGTCTGCGGAACCGGTGAGTACACCGGAAT		
HCV-1		-----		
J1	101	TGCCAGGACGACCGGTCCTTTCTTGGATCAACCC		
HCV-1		-----		
J1	136	GCTCAATGCCTGGAGATTGCGCGTGGCCCCCGGA		
HCV-1		-----A-		
J1	171	GA CTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTGGCGAAAGCC		
HCV-1		-----		
J1	206	CTTGTGGTACTGCGCTGATAGGGTGGCTTGGAGTGC		
HCV-1		-----		
J1	241	CCCCGGAGGTCTCGTAGACCGTGCATCATG AGC	Met Ser	
HCV-1		-----C-----		
J1	274	Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr ACA AAT CCT AAA CCT CAA AGA AAA ACC --C --- --- --- --- --A- --A-	Lys Asn	
HCV-1				
J1	301	Lys Arg Asn Thr Asn Arg Arg Pro Gln AAA CGT AAC ACC AAC CGC CGC CCA CAG --- --- --- --- --T --- ---		
HCV-1				
J1	328	Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln CAC GTC AAG TTC CCC GGC GGT GGT CAG --- --- --- --- --T --C ---		
HCV-1				
J1	355	Ile Val Gly Gly Val Tyr Leu Leu Pro ATC GTT CCT GGA GTT TAC CTC TTG CCG --- --- --- --- --- T- ---		
HCV-1				
J1	382	Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg CGC AGG GGC CCC AGG TTC GGT GTG CGC --- --- --- --T --A ---		
HCV-1				

フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/566			G 0 1 N 33/566	
33/576			33/576	Z
33/577			33/577	B
// A 6 1 K 38/00	ADY		C 1 2 P 21/08	
C 1 2 P 21/08			A 6 1 K 37/02	ADY
(C 1 2 N 1/21				
C 1 2 R 1:19)				
(C 1 2 P 21/02				
C 1 2 R 1:19)				

(72)発明者 斎藤 泉  
東京都 渋谷区 代々木 2-37-15-412

(72)発明者 マイケル ホートン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94526  
ダンビル, ローズメッド コート 53

(72)発明者 エイミー ジェイ. ウェイナー  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94510  
ベニシア, グリーンブライヤー コート 433

(72)発明者 ヤン ハン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94549  
ラファイエット, デル マー 3238

(60)

特開平9-187285

(72)発明者 ジャニス エイ. コルバーグ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94804  
リッチモンド, スクーナー コート  
179

(72)発明者 タイーアン チャ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94583  
サン ラモン, スプリングビュー サー  
クル 964

(72)発明者 ブルース ダンカン アービン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94519  
コンコード, エル モンテ ドライブ  
3401